

Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова
Федерального медико-биологического агентства»
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический
медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

БАТОЦЫРЕНОВА ЕКАТЕРИНА ГЕННАДЬЕВНА

БИОХИМИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ
КОРРЕКЦИИ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ОРГАНИЗМА В
УСЛОВИЯХ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА
(экспериментальное исследование)

1.5.4 биохимия

3.3.6 фармакология, клиническая фармакология
(биологические науки)

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
доктора биологических наук

Научные консультанты:
доктор медицинских наук, доцент
Кашуро Вадим Анатольевич
доктор медицинских наук, профессор
Иванов Дмитрий Олегович

Санкт-Петербург, 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ОГЛАВЛЕНИЕ	2
ВВЕДЕНИЕ.....	8
ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	15
1.1 Структура циркадианной системы	17
1.1.2 Циркадианные ритмы и нетранскрипционные осцилляторы	19
1.1.3 Осцилляции глутатиона.....	22
1.1.4 Взаимодействие гипоксии, гипоксия-индуцибельного фактора и циркадианных ритмов	23
1.1.5 Циркадианные ритмы и метаболизм	26
1.2 Методические подходы к моделированию световых десинхронозов.....	30
1.3. Характеристика тиопентала натрия.....	38
1.4. Фармакологическая коррекция нарушений циркадианных ритмов.....	41
1.4.1 «Хронобиотики» прямого действия	41
1.4.2 Пептидные препараты эпифиза.....	44
1.4.3 Орексины.....	46
1.4.4 Терапевтический потенциал низкомолекулярных модуляторов циркадианной системы	47
1.4.5 Идентификация низкомолекулярных модуляторов клеточных часов	49
1.5 «Хронобиотики» непрямого действия.....	50
ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ	55
2.1 Выбор и содержание животных.....	55
2.2 Моделирование «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза и экспериментальная фармакологическая коррекция функционального состояния крыс	56
2.3 Препараты фармакологической коррекции	57
2.3.1 Сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1Н-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота) - KSE-02	57
2.3.2 Мелатонин.....	58
2.3.3 Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя (<i>Rangifer tarandus</i>).....	59
2.4 Методики изучения особенностей состава пептидного комплекса гипофиза	59
2.4.1 Определение молекулярно-массового распределения белков и пептидов.....	59
2.5 Биохимические методы исследования в крови и в тканях экспериментальных животных	63
2.6 Определение концентрации катехоламинов в плазме крови методом ВЭЖХ.....	64

2.7	Определение активности Na^+, K^+ -АТФазы микросом мозга экспериментальных животных.....	65
2.8	Методы изучения интегральных показателей поведенческих и когнитивных функций экспериментальных животных.....	66
2.9	Статистическая обработка полученных результатов.....	66
ГЛАВА 3 МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА		68
ГЛАВА 4. КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА.....		75
4.1	Показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс до и после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.....	76
4.1.1	Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 1 месяц после изменения светового режима.....	76
4.1.2	Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 3 месяца после изменения светового режима.....	77
4.1.3	Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима.....	78
4.1.4	Показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима	81
4.1.5.	Обсуждение результатов, полученных при исследовании показателей АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.....	82
4.2	Показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей мозга крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.....	93
4.2.1	Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга через 1 месяц светового десинхроноза.....	94
4.2.2	Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга через 3 месяца после изменения светового режима.....	95
4.2.4	Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс через 3 месяца после « усиления окислительного давления» при световом десинхронозе.....	98
4.2.5	Обсуждение результатов исследования показателей АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	100

4.3 Изучение показателей энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	108
4.3.1 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови животных через 1 месяц после изменения светового режима.	108
4.3.2 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови через 3 месяца после изменения светового режима.	109
4.3.3 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима.	110
4.3.4 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима ...	111
4.3.5 Обсуждение результатов исследования показателей энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	116
4.4 Изучение катехоламинов в плазме крови крыс в условиях измененного светового режима и при «усилении окислительного давления»	124
4.4.1 Показатели катехоламинов в плазме крови через 1 месяц после изменения светового режима	124
4.4.2 Результаты исследований катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после изменения светового режима.....	124
4.4.3 Результаты исследований катехоламинов в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима	125
4.4.4 Результаты исследований катехоламинов в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	126
4.4.5 Обсуждение результатов исследования катехоламинов в плазме крови при «усилении окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза.....	127
4.5 Изучение нейротрофических маркеров в плазме крови крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	133
4.5.1 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 1 месяц изменения светового режима.....	133
4.5.2 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 3 месяца изменения светового режима.....	134
4.5.3 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза.....	135
4.5.4 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза.....	136

4.5.5 Обсуждение изменений концентрации нейротрофических маркеров в плазме крови крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	140
4.6 Исследование поведенческой активности крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	143
4.6.1 Результаты исследований поведенческой активности крыс через 1 месяц после изменения светового режима.....	143
4.6.2 Результаты исследований поведенческой активности крыс через 3 месяца после изменения светового режима.....	145
4.6.3 Показатели поведенческой активности в тесте «Открытое поле» у крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза.....	146
4.6.4 Показатели поведенческой активности в тесте «Открытое поле» у крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза.....	148
4.7 Исследование когнитивных функций крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	153
4.7.1 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 1 месяц после изменения светового режима.....	153
4.7.2 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 3 месяца после изменения светового режима.....	155
4.7.3 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза	157
4.7.4 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза.....	158
4.7.5 Обсуждение результатов оценки поведенческой активности крыс и их когнитивных функций при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза	162
ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КОРРЕКЦИИ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА.....	167
5.1 Фармакологическая коррекция показателей АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс в условиях светового десинхроноза	168
5.1.1 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.	168
5.1.2 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза.....	175

5.2 Изменений показателей АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс в условиях хронического светового десинхроноза при фармакологической коррекции	190
5.2.1. Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза	190
5.2.2 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в головном мозге крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного и светового десинхроноза.....	194
5.3 Активность ферментов энергетического обмена в головном мозге и в плазме крови крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции	208
5.3.1 Результаты фармакологической коррекции активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга ФЕПК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза.....	208
5.3.2 Результаты фармакологической коррекции активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга крыс, концентрации ФЕПК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза	212
5.4. Содержание катехоламинов в плазме крови крыс в условиях хронического светового десинхроноза и фармакологической коррекции	226
5.4.1 Фармакологическая коррекция содержания катехоламинов в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.....	226
5.4.2 Результаты фармакологической коррекции концентрации катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза.....	229
5.5 Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекция.....	232
5.5.1 Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс через 1 месяц в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции.	233
5.5.2 Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс через 3 месяца в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции	243
5.6 Поведенческие показатели крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции	251

5.6.1. Фармакологическая коррекция поведенческих показателей крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.	251
5.6.2. Фармакологическая коррекция поведенческих показателей крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.	262
5.7 Фармакологическая коррекция когнитивных функций крыс в условиях светового десинхроноза.....	273
5.7.1. Фармакологическая коррекция когнитивных функций крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.	273
5.7.2. Фармакологическая коррекция когнитивных функций крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.	283
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	293
ВЫВОДЫ.....	297
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ	299
ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ.....	300
СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ	301
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	303

ВВЕДЕНИЕ

В основе механизма адаптации живых организмов в пространственно-временном континууме лежат биологические ритмы. Биологические ритмы контролирует функции организма от клеточного уровня до уровня поведения. Суточные колебания биохимических процессов затрагивают каждую клетку организма. Все реакции метаболизма от получения энергии, функции дыхания и кровообращения, синтеза и секреции гормонов до деятельности центральной нервной системы имеют ритмическую основу. Ведущая роль в организации биосистем принадлежит циркадианным ритмам или околосоутчным. Цикл освещенности является доминирующим временным указателем для формирования эндогенных циркадианных ритмов, которые действуют практически на все функции организма [1; 5; 166]. У млекопитающих центральный осциллятор супрахиазматических ядер гипоталамуса (СХЯ) объединяет световые сигналы от сетчатки и управляет функциями органов с использованием различных эфферентов и гуморальных факторов. Одновременно клетки многих тканей демонстрируют самостоятельные осцилляции, поэтому ключевой функцией СХЯ является выравнивание фаз периферийных часов для обеспечения синхронизации в мультиосцилляторной системе [175; 204; 322]. Однако выживание живой системы зависит от их способности формировать свои ритмы в ответ на воздействие сложных внешних факторов, в частности, при нарушении ритмичности поступления светового сигнала [440; 447]. Различные компоненты системы биоритмов имеют дифференциальную чувствительность к ритмозадателям разной природы. Так, взаимодействие между световыми и не световыми стимулами в циркадианном ритме человека, у других животных четко не установлена. Ритмы могут быть сдвинуты из-за изменения (возбуждения) поведенческой активности. Для некоторых видов животных социальные сигналы могут служить как для синхронизации циркадианных ритмов в отсутствие других временных сигналов или для усиления неоднозначных световых сигналов, так и для десинхронизации биологических ритмов. Вследствие резких сбоев ритма внешнего времядатчика может происходить десинхронизация внутренних биологических ритмов [492; 493; 507]. Реакция живого организма на сбой ритма может быть необратимой вследствие перенапряжения под воздействием другого стрессового фактора. Согласно определению Рапопорта С.И и Чибисова С.М. десинхронозом называется «такая степень внутреннего дисхронизма, который становится инертным, а то и необратимым и влечет за собой патологические проявления физиологических функций как таковых» [147].

В реальных жизненных ситуациях множественные взаимодействия между световыми и не световыми сигналами могут иметь значение для ежедневной фазовой корректировки циркадных часов и их контроля над 24-часовой временной организацией всего организма.

Возможно, за счет этих взаимосвязей поддерживают устойчивый циркадианный ритм обитатели северных регионов в условиях полярной ночи или дня [177; 361; 525; 550]. Особенную значимость приобретают исследования световых десинхронозов, связанных с профессиональной деятельностью людей, от которых требуется четко координированная мышечная деятельность, адекватная поведенческая активность, а именно, военнослужащих, спортсменов, врачей, полицейских, операторов, командиров морских и воздушных лайнеров, вахтовиков [23; 24; 48; 274; 290]. Десинхронизация ритмов способствует развитию негативных последствий для здоровья человека. На сегодняшний день считается, что многие нейродегенеративные заболевания, ожирение, рак, ишемическая болезнь, ранняя смерть ассоциированы с временной десинхронизацией биологических ритмов [10; 11; 12; 43; 86].

Проведенный анализ данных литературы показал, что основными группами препаратов для фармакологической коррекции циркадианных ритмов в целях профилактики развития нарушений, как на клеточном уровне, так и на уровне ЦНС являются: мелатонин и его аналоги (агомелатин, тазимелтеон и другие) [293; 508; 382]. Также предлагается регулятор метаболизма эндогенного мелатонина тетрапептид – эпиталон [7; 40; 42; 114]. Учитывая возросшую роль периферической циркадианной системы в регуляции биологического хронометрирования, возможности мелатонина в модуляции циркадианной дисфункции и поддержания метаболизма в целом организме значимо снижаются. Ряд исследований на клеточных культурах показал эффективность некоторых низкомолекулярных веществ, непосредственно воздействующих на компоненты клеточных часов по отдельности, но их терапевтический потенциал на целостный организм неизвестен. Список заболеваний, связанных с нарушением клеточного хронометража постоянно растет. Исследование низкомолекулярных соединений различной природы способствует идентификации регулирующих связей внутри циркадианной сети и облегчает поиск новых лекарственных средств для терапии заболеваний, связанных с нарушением циркадианной регуляции.

В связи с вышеизложенными вопросами **целью исследования** явилось изучение биохимических механизмов, лежащих в основе реакции периферической циркадианной системы, на длительное изменение светового режима для обоснования фармакологической коррекции функционального состояния организма.

Для достижения поставленной цели предстояло решить **следующие задачи**:

1. Разработать модель светового десинхроноза на крысах для исследования молекулярно-биохимических показателей и функционального состояния организма.
2. Исследовать молекулярно-биохимические показатели крыс в условиях длительного светового десинхроноза и при «усилении окислительного давления», симулируемого отравлением тиопенталом натрия в сублетальной дозе.

3. Проанализировать взаимодействие контролируемых факторов («усиления окислительного давления» и режима освещения) по показателям АОС, ПОЛ, энергетического обмена, нейротрофических факторов с целью обоснования фармакологической коррекции выявленных нарушений.

4. Исследовать показатели, оценивающие функциональное состояние ЦНС крыс в условиях светового десинхроноза и при «усилении окислительного давления».

5. Проанализировать взаимодействие фактора «усиления окислительного давления» и фактора режима освещения с целью оценки их вклада в реализацию биохимических механизмов фармакологической коррекции функционального состояния организма в условиях светового десинхроноза.

6. Исследовать влияние мелатонина и его аналога, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя на показатели АОС, ПОЛ, энергетического обмена, нейротрофических факторов для оценки фармакологического эффекта и установления взаимодействия с поведенческими и когнитивными функциями у крыс в условиях светового десинхроноза.

Научная новизна работы. Впервые дана комплексная характеристика изменений показателей АОС, энергетического обмена, нейротрофических факторов в условиях хронического светового десинхроноза. Для проведения эксперимента была создана модель изменения исходной хроноструктуры организма путем усиления «окислительного давления», вызванного острым отравлением тиопенталом натрия в дозе LD50. На данной модели были исследованы молекулярно-биохимические показатели в двух тканях организма и взаимодействие осцилляторов разных уровней. Выявлено, что при хроническом световом десинхронозе наблюдается дисбаланс показателей АОС эритроцитов и клеток тканей головного мозга крыс. Активность СОД повышается, при одновременном снижении активности ГП, ГТ и Г-6-ДГ, наблюдается нарушение в тиоловой системе. Взаимодействие двух факторов, а именно нарушение осцилляции на уровне клеток и изменение светового режима в периферических тканях выявлено на показателях ПОЛ. Выявлено, что хронический световой десинхроноз истощает биоэнергетические ресурсы организма за счет снижения общей активности КК и ЛДГ в тканях головного мозга, выявлены гипоксия-ассоциированные изменения. Выявлено нарушение протекторной функции нейротрофических факторов в состоянии гипоксии при хроническом световом десинхронозе. Биохимические изменения на уровне клеток проявились в выраженном нарушении двигательной активности, эмоциональной напряженности. Сочетанное воздействие «окислительного давления» и хронического светового десинхроноза проявило точки их патогенетического взаимодействия. Для такого анализа был использован двухфакторный дисперсионный анализ. На основании выявленных точек взаимодействия фактора освещения и циркадианной системы на разных уровнях организации биосистемы

использованы новые фармакологические субстанции разного химического строения: сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1Н-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановой кислоты и пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя, которые проявили антиоксидантную, антигипоксическую, нейропротекторную, антиапоптотическую, мембранопротекторную, энергостабилизирующую и метаболическую активности. В результате функциональное состояние организма в условиях хронического светового десинхроноза было синхронизировано под конкретные условия внешней среды, благодаря чему нормализовалась двигательная функция животных, восстановились когнитивные навыки, что способствовало выработке организмом адаптивной стратегии к воздействию экстремальных факторов внешней среды.

Теоретическая и практическая значимость работы. Результаты проведенных исследований позволяют расширить знания об основных патогенетических механизмах последствий хронического светового десинхроноза. Выявленные «точки взаимодействия» между отдельными биохимическими компонентами эндогенных биологических часов и внешним ритмозадателем – светом, необходимо использовать как мишени фармакологической коррекции нарушенных функций организма в условиях сбоя ритма внешнего времядатчика. Восстановление адекватных поведенческих реакций животных в течение продолжительного светового десинхроноза при использовании новых фармакологических субстанций позволяют предположить, что изменение двигательной активности синхронизирует внутренние биологические ритмы биохимических реакций с внешними условиями. Полученные данные позволяют их использовать для прогнозирования неблагоприятных последствий резких и длительных внешних воздействий, а также выработать систему ослабления воздействия подобных событий, включая фармакологическое воздействие.

В условиях хронического светового десинхроноза, полярного дня или полярной ночи, необходимо поддержание двигательной активности, как и в условиях обычного освещения для повышения использования тканями кислорода и снижения вероятности возникновения депрессивных состояний, астении. Для поддержания функционального состояния организма при выполнении задач, требующих высокой концентрации внимания, фиксации определенной информации, возможно использование соединений с антиоксидантной, хронобиотической, адаптогенной активностью. Получены патенты на изобретение средств для коррекции и профилактики состояний, вызванных нарушением циркадианных ритмов.

Методология и методы исследований. Для достижения поставленной цели исследования были сформулированы конкретные задачи и определен комплекс методов:

1. Биохимические методы исследования (показатели антиоксидантной системы, перекисного окисления липидов, показатели энергетического обмена, нейротрофические

факторы плазмы крови, катехоламины плазмы крови)

2. Методы, используемые для исследования поведенческих реакций и когнитивных навыков (тест «Открытое поле», тест «Условная реакция пассивного избегания»)

3. Статистические методы исследования (косинор-анализ, непараметрическая статистика с использованием критерия Манна-Уитни, двухфакторный дисперсионный анализ). Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения AtteStat, версия 13.

4. Степень достоверности результатов определяется достаточным и репрезентативным объемом выборки, рандомизацией и формированием исследуемых групп и контрольных групп сравнения, надлежащими токсикологическими, поведенческими моделями, использованием современных методов оценки клинических и лабораторных показателей острого отравления, достаточными сроками наблюдения. Методы математической обработки результатов адекватны поставленным задачам.

Положения, выносимые на защиту:

1. Хроническое изменение светового режима сопровождается образованием редокс-активных метаболитов, что вызывает дисбаланс ферментного и неферментного звена антиоксидантной защиты в тканях головного мозга и в эритроцитах, что приводит к развитию оксидативного стресса.

2. Оксидативный стресс и изменение светового режима имеют общие патогенетические точки взаимодействия: аддитивность взаимодействия длительного изменения светового режима и «усиления окислительного давления» имеет как потенцирующий характер, в отдельных случаях, проявляется частичный антагонизм, что является основой для выбора тактики фармакологической коррекции.

3. Хроническое изменение светового режима вызывает нарушение процессов энергопродукции, что проявляется гипоксией-ассоциированными изменениями в тканях головного мозга.

4. Нарушение гомеостаза нейротрофических факторов, выявленное при хроническом изменении светового режима, отражает преобладание процессов нейродеструкции, способствующих нарушению нейропластичности ЦНС, что определяет подходы для фармакологической коррекции соединениями с нейропротективным действием.

5. Нарушение высшей нервной деятельности экспериментальных животных при хроническом изменении светового режима подтверждается снижением поисковой активности и когнитивных функций.

6. Производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота (KSE-02) проявляет антиоксидантный и хронобиотический эффекты при нарушении

хроноструктуры организма.

7. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя проявляет антиоксидантный, хронобиотический, нейропротекторный, ноотропный и метаболический эффекты при длительном световом десинхронозе.

Реализация и внедрение результатов работы. Результаты проведенных исследований внедрены в учебную работу на кафедре биологической химии Санкт-Петербургского государственного медицинского педиатрического университета Министерства здравоохранения Российской Федерации при проведении лекционных и семинарских занятий со студентами педиатрического, лечебного факультетов (по специальностям «педиатрия» и «медико-профилактическое дело»), в рабочие программы дисциплин внесены соответствующие темы практических занятий (протокол кафедрального заседания № 15 от 27.06.2023). Материалы работы внедрены в учебный процесс при проведении занятий по программе дополнительного профессионального образования «Методологические основы проведения доклинических исследований в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики GLP ОЭСР» и для обучения в аспирантуре по специальностям «токсикология» и «фармакология, клиническая фармакология» в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-клинический центр токсикологии им. С.Н. Голикова» ФМБА России (акт внедрения № 2).

Степень достоверности и апробация результатов работы. Степень достоверности полученных результатов определяется достаточным и репрезентативным объемом выборки, рандомизацией и формированием экспериментальных групп животных, использованием адекватной модели хронического светового десинхроноза и токсического поражения ЦНС, обоснованным выбором фармакологических субстанций. В работе использован комплексный подход для выявления изменений функционального состояния организма на различных уровнях организации биосистемы. Используемые методы математической обработки результатов работы соответствуют поставленным задачам.

Основные положения диссертации были представлены в докладах на 1 международной и на 14 Российских научных конференциях, в том числе с международным участием: 7th International human microbiome consortium meeting (Ireland, 2018), III Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний» (Сочи, 2015); Всероссийской конференции с международным участием «Окислительный стресс в психиатрии и неврологии» (Санкт-Петербург, 2016), V съезд биохимиков России (Сочи, 2016), II Всероссийской научной конференции «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты» (Томск, 2017), V Съезд фармакологов России (Ярославль, 2018), III Российский съезд по хронобиологии и хрономедицине с международным участием (Ессентуки, 2018), VI съезд

физиологов СНГ, VI съезд биохимиков России, IX Российский симпозиум «Белки и пептиды» (Сочи, 2019), Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Скорая медицинская помощь – 2019» (Санкт-Петербург, 2019), международная конференция «Хронобиология в медицине и спорте», посвященная 100-летию со дня рождения Франца Халберга (Москва ФГАОУ ВО РУДН, 2020), заседаний Фонда перспективных исследований (Москва, 2016, 2017), Конгресса с международным участием «Здоровые дети – будущее страны» (Санкт-Петербург, 2019, 2022), Всероссийской научно-практической конференции «Медико-биологические аспекты обеспечения химической безопасности Российской Федерации» (Санкт-Петербург, 2022), VII объединенного съезда биохимиков, молекулярных биологов и физиологов (Сочи, 2022).

Личный вклад автора. Автором предложена идея для исследования проблемы возможностей биологической системы в условиях изменения светового режима как основного времязадатчика, насколько устойчивы циркадианные ритмы организма при длительном световом десинхронозе. Автором проведен анализ данных литературы по данной проблеме, разработан дизайн исследования. Все экспериментальные исследования проведены с непосредственным участием автора. Автор провел обработку полученных результатов методами косинор-анализа, описательной статистики, параметрической и непараметрической статистики, дисперсионного анализа. Автором представлены результаты исследований в научных публикациях, в выступлениях на конференциях различного уровня.

Исследования проводились в рамках государственного задания «Разработка подходов к коррекции нарушений функционального состояния организма при отравлениях нейротоксикантами в условиях изменения светового режима», шифр «Ритм» (рег. № НИР АААА-А18-118031290067-6) в ФГБУН ИТ ФМБА России.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 40 научных работ, из них 15 научных статей (7 статей - в журналах, рекомендованных ВАК, 8 статей – в журналах, индексируемых в Scopus и Wos). Получено 2 патента на изобретение РФ, подготовлены и опубликованы 2 методических рекомендаций, выпущено 2 учебных пособия.

Структура диссертации. Диссертационная работа содержит введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, 3 главы собственных исследований и обсуждение полученных результатов, заключение, выводы, практические рекомендации, список сокращений и условных обозначений, список литературы. Работа изложена на 348 страницах машинописного текста, включает 174 таблицы, 6 рисунков, список цитируемой литературы включает 563 источника, из них 157 отечественных.

ГЛАВА 1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР

Режим освещения является основным внешним синхронизирующим фактором для всех живых систем и обусловлен вращением Земли вокруг своей оси. Суточный ритм освещенности зависит от времен года и существенно изменяется в разных широтах Земли. Живые организмы наделены врожденной предупреждающей программой адаптации к изменению режима освещения, и возможностью ее корректировки с внешней периодикой, которая называется циркадианными ритмами [32; 217]. Циркадианные ритмы являются универсальной и фундаментальной характеристикой многих типов живых организмов. Циркадианные часы «предвосхищают экологические циклы», контролируют суточные ритмы в биохимических реакциях, в физиологических и поведенческих процессах [478; 502]. У всех типов организмов циркадианные часы синхронизируются с каким-то внешними сигналами, например, это может быть свет, температура, пища, физическая нагрузка. В отсутствие каких-либо внешних сигналов, они являются автономными, обладают собственной осцилляцией, и, что особенно важно, являются клеточно-автономными и/или генетически детерминированными. Циркадианные часы имеют сложную иерархическую структуру, связанную с разными уровнями организации жизни. Фундаментальные свойства автономных клеточно-молекулярных осцилляций и их тканеспецифические свойства, способствуют взаимодействию центральных и периферических часов, что, в конечном счете, будет проявляться на суточных ритмах поведения организма [493; 500]. Полезность программы, соответствующей каким-либо циклическим изменениям окружающей среды, зависит от поддержания нужной фазы относительно этих циклов. Возникновение соответствующего клеточного «колебателя» позволяет «метаболическому котлу» в разные фазы внешнего суточного цикла переходить на качественно новые уровни за счет множества обратных связей, как положительного, так и отрицательного характера [317; 330]. Автономность осциллятора поддерживается метаболической энергией, поэтому любые изменения метаболизма, приводящие к изменению ритма на клеточном уровне, приводят нарушению колебаний осциллятора и системы в целом [256; 296; 484].

В основе современной многоосцилляторной циркадианной системы многоклеточного организма лежит общий принцип: функциональная целостность отдельного колебателя основана на взаимном сопряжении всех составляющих его клеток. В периферических органах при задании осциллятором последовательности событий будут использоваться возможности иерархического захватывания других осцилляторов. Для того чтобы внутреннее сопряжение не позволило различным ритмам «разъединиться» и протекать независимо друг от друга, необходимо наличие центрального «осциллятора», который захватывается экстероцептивными

сигналами, отражающими течение времени. На сегодняшний день супрахиазматические ядра гипоталамуса рассматриваются как «master-clock», синхронизирующие церебральные и периферические осцилляторы в соответствии с изменениями уровня освещенности [206; 380]. Поскольку циркадианные колебатели синхронизированы не только с внешними ритмозадателями, но и между собой, то в организме должны существовать пути передачи соответствующей информации. Этими путями являются ритмическая активность нервной и эндокринной систем, что отражается в показателях концентраций различных соединений в сыворотке крови, в моче и, конечно, проявляет себя на поведенческом уровне [161; 203; 205; 218].

При различных расстройствах биоритмов организма происходит нарушение направленности и степени сдвига различных показателей колебательного процесса, происходит изменение длительности периода, частоты, амплитуды того или иного биоритма и рассогласование ранее синхронизированных внутри- или межсистемных ритмов, возможно развитие десинхроноза. Под состоянием десинхроноза понимается – «степень внутреннего дисхронизма, который становится инертным, а то и необратимым и влечет за собой патологические проявления физиологических функций как таковых» [147].

В процессе жизнедеятельности человек подвергается одновременному воздействию факторов, как физической, так и химической природы. Успехи освоения новых климатогеографических зон, космоса, мирового океана определяются способностью людей адаптироваться к новым условиям окружающей среды. Циркадианные ритмы определяют физическую, психическую и поведенческую ритмичность человека, являются как способом сохранения внутренней устойчивости организма к действию факторов внешней среды, так и способом адаптации [69; 121]. В развитых странах нарушение циркадианных ритмов из-за частой сменной работы, воздействия искусственного света, трансмеридиональных перелетов, участия в общественной деятельности, стало усугубляющим или основополагающим фактором при развитии заболеваний. В статистических отчетах показано, что работающие в ночную смену люди имеют более высокую заболеваемость, страдают ожирением, гипертонией и сахарным диабетом 2 типа, психическими нарушениями [55; 123; 146]. В тоже время, расширение сферы профессиональной деятельности человека, ускоряющаяся урбанизация, хронические нервно-эмоциональные нагрузки, техногенные аварии, катастрофы, ухудшение условий экологической среды способствует отравлению различными химическими веществами [121]. Первенство в исследованиях экстремальных факторов на человека при изменении факторов внешней среды, в области космической медицины принадлежит советским ученым Парину В.В., Черниговскому В.Н., Баевскому Р.М., Газенко О.Г. [23; 24; 48; 83].

Воздействие любого из факторов или их сочетания может быть экстремальным, что может привести к изменению здоровья человека, нарушению его работоспособности. С другой стороны, возможно, данное воздействие будет сопровождаться развитием устойчивого приспособления и смещения всей системы регуляции гомеостаза на новый уровень функционирования. Такой эффект приведет к оптимизации функционального состояния организма и восстановлению работоспособности человека в экстремальных условиях [2; 4; 59; 281].

Однако в последние десятилетия отмечается снижение нервно-психической устойчивости и адаптационного потенциала лиц молодого возраста, увеличение в структуре работоспособного населения доли лиц старшего возраста, имеющих хронические заболевания, что не позволяет рассчитывать на компенсаторные возможности организма вследствие различной интенсивности, длительности воздействующего фактора и ограниченности физиологических резервов [2; 145; 178].

Существуют различные виды светового десинхроноза, обусловленные как природными условиями (естественный режим освещения в северной части России, в Арктике, Антарктике), так и техногенными причинами (работа в ночную смену). Световой десинхроноз может быть вызван постоянным освещением, постоянной темнотой, временными нарушениями темноты в период ночного сна (даже кратковременные вспышки света приводят к нарушениям суточного ритма) [43; 246; 247].

1.1 Структура циркадианной системы

Циркадианная система состоит из «центральных часов», расположенных в супрахиазматическом ядре, и периферических часов в различных тканях. По данным литературы на сегодняшний день выяснена структура центрального элемента всех осцилляторов – это белки часовых генов (CLOCK-белки), синтезирующиеся в большинстве клеток организма млекопитающих. Белки кодируются соответствующими генами *period* (белки PER1, PER2, PER3), *cryptochrome* (белки CRY1, CRY2, CRY3), *clock* (белок CLOCK), *bmal1* (белок BMAL1). Все белки являются транскрипционными факторами, содержащих домен basic-helix-loop-helix (bHLH), связывающий белок с ДНК, и PAS- домен (Per-Arnt-Sim). Домен PAS активируется светом и может связывать железо-содержащий гем, O₂, CO или NO. PAS-содержащие белки реагируют на изменение светового режима, на изменение уровня клеточного метаболизма как источника эндогенной энергии для клеточного осциллятора [302; 333; 502]. Параметры энергетического обмена, обмена гормонов являются информационно значимыми сигналами для PAS-доменов clock-белков [351; 396; 397; 418; 427]. При активации

PAS изменяется структура основного эффекторного белка clock-осциллятора Bmal1 домена. Домены этих белков сближаются, в результате осуществляется передача информационно значимого сигнала. Эффекторный домен clock-белка обладает ферментативной активностью гистидинкиназы или фосфодиэстеразы (у прокариот), а у млекопитающих PAS активирует ДНК-связывающий домен bHLH, который интегрирует сигналы об уровне экзо- и/или эндогенной энергии от PAS-домена и информационные сигналы о влиянии лигандов (гормонов) через систему вторичных мессенджеров [150]. PAS домен имеют многие белки, важные для поддержания энергетического гомеостаза, например, HIF1 α и HIF1 β (транскрипционные факторы, индуцированные гипоксией), а также PASK (PAS-содержащая киназа). Этот фермент поддерживает базальный уровень секреции инсулина, ключевого гормона-регулятора метаболизма [260]. Через PAS-домены часовые белки взаимодействуют между собой с образованием гетеродимерных комплексов PER1/CRY1, PER2/CRY2, объединенных в тетрамер. Гетеродимер Clock/Bmal1 представляет эффекторное звено часового осциллятора, а PER1/CRY1-Per2/Cry2 – регуляторное, определяющее длительность задержки в звене обратной связи для подстройки к 24-часовому ритму. Комплекс Clock/Bmal1 транслоцируется в ядро, ремоделирует хроматин и активирует транскрипцию генов, имеющих в промоторе один или несколько сайтов E-box (Enhancer-box) cis-регуляторных с канонической последовательностью нуклеотидов CACGTG. CLOCK/BMAL1 контролирует гены транскрипционных факторов Per, Cry, Ror, Rev-Erb α , PPAR α , PPAR γ , продукты которых регулируют транскрипцию CLOCK/BMAL1. [378,426,436]. Они действуют через другие участки промоторов, а также комплекс генов ключевых ферментов и гормонов-регуляторов углеводного, липидного и энергетического метаболизма. По мере экспрессии и накопления гетеротетрамеров PER1/CRY1/PER2/CRY2 они транспортируются в ядро, где связывают белки Clock и Bmal1 и подавляют их транскрипционную активность. По данным литературы, более сложная картина, например, в клетках печени. В утренние часы частота связывания белков BMAL1, CLOCK в гепатоцитах с ДНК была наибольшей. Для белков PER1, PER2, CRY2 – на 16 час, тогда как для CRY1 – на 24-01 час [150; 224]. Изучение динамики и локализации эффектов белка Cry1 показало, что он участвует в контроле собственной транскрипции в зависимости от ультрадианных фаз околосуточного ритма, то есть может воздействовать на связывание соответствующих транскрипционных факторов с разными последовательностями ДНК: «утренними» (Clock/Bmal1 – с E/E'box в промоторе гена *cry1*), «дневными» (DBP – с D-box в составе проксимального промотора гена *cry1*) и «ночными» (*Rev-erba* или ROR с RRE – *Rev-erba*, ROR-Responsive Element в составе интрона энхансерной области гена *cry1*) [150; 226].

Таким образом, максимум связывания с ДНК обусловлен концентрацией в нуклеоплазме определенных CLOCK-белков, зависящей от соотношения интенсивности процессов

транскрипции генов, посттранскрипционной модификации мРНК, синтеза CLOCK-белков и их посттрансляционной модификации, а также скорости убиквитин-зависимой деградации clock-белков в протеасомах. В частности, показано, что по мере роста в цитоплазме концентрации белков PER они фосфорилируются киназами 1 дельта и 1 эпсилон (CK1 δ/ϵ) [13], а PER2 дополнительно фосфорилируется киназой 3 β -гликогенсинтазы (GSK3 β) и ацетируется, что приводит к убиквитин-зависимой протеасомной деградации этих белков [150; 296; 317; 353].

1.1.2 Циркадианные ритмы и нетранскрипционные осцилляторы

У эукариот в формировании циркадианного осциллятора белков часовых генов, регулирующих энергетический обмен в митохондриях, играет роль редокс-статус клетки, обеспечивший большую стабильность циркадианного ритма и расширивших возможности его коррекции благодаря многочисленным прямым и опосредованным обратным связям, а также разнообразным процессам посттранскрипционной и посттрансляционной модификации CLOCK-белков. В безъядерных и ядерных клетках обнаруживаются ритмы [338; 407; 435]. Выявлено взаимодействие между циркадианными часами в клетках и окислительно-восстановительным состоянием, которое контролирует как процессы транскрипции, так и нетранскрипционные процессы. Благодаря открытию колебательных химических реакций Белоусова – Жаботинского, в последние годы появляется много свидетельств о взаимозависимости «транскрипционных часов» и редокс-баланса в клетке. Транскрипционная модель клеточных часов объясняет, как контролируется уровень многих антиоксидантных белков, количество необходимых кофакторов для реакций, но также и наоборот, окислительно-восстановительное равновесие является необходимой частью для транскрипционного осциллятора. С помощью редокс-чувствительных транскрипционных факторов и ферментов контролируется метаболизм клетки [436; 447].

Существует предположение, что циркадианные автономная окислительно-восстановительная и транскрипционная осцилляции развивались независимо друг от друга. Отмечается высокая филогенетическая сохранность окислительно-восстановительного осциллятора, что дает возможность предполагать о его предшествовании эволюции транскрипционного осциллятора. Это открытие позволяет по-новому оценить догматический транскрипционно-центрированный взгляд на часовые механизмы в клетках. Эти взаимосвязи мало исследованы и многие вопросы не решены [381; 521].

В 2011 году поиск нетранскрипционных осцилляторов обнаружил все ключевые характеристики циркадных часов у антиоксидантных белков – пероксиредоксинов (PRDX) [407]. Эти белки были обнаружены в человеческих ануклеарных клетках – эритроцитах.

Окислительно-восстановительные колебания сохраняются во всех видах жизни. Этот нетранскрипционный механизм противодействовал окислительному стрессу и был первым хронометражом у первых анаэробных организмов. Пероксиредоксины – это семейство белково-тиопероксидаз, которые служат для поддержания клеточного окислительно-восстановительного потенциала путем поддержания уровня активных форм кислорода и азота [445]. Основной мишенью этих белков в клетке является перекись водорода. Отличительной чертой этого семейства белков является наличие в активном центре остатка цистеина, который проявляет беспрецедентно высокую реакционную активность по отношению к биологическим перекисям. Благодаря высокой специфичности PRDX по отношению к перекиси водорода, эти реакции имеют очень высокие скорости [446; 544].

Регуляция активности пероксиредоксинов происходит как на уровне транскрипции генов (*prx*), так и на уровне трансляции и посттрансляционных модификаций белков. Одним из основных факторов, влияющих на уровень экспрессии генов *prx*, является окислительный стресс, вызванный гипероксией, УФ облучением, ионизирующим излучением и т.д. Для всех генов *prx 1-6* показано, что их экспрессия возрастает при гипероксии и действии пероксидов [540; 555]. Индукция экспрессии генов *prx* наблюдается одновременно с экспрессией генов, индуцируемых окислительным стрессом. Показано, что *prx1* индуцируется одновременно с геном *HO-1* гемоксигеназы-1 (фермент, участвующий в деградации гема) как общий адаптивный ответ клеток на окислительный стресс. Следует отметить, что регуляцию экспрессии генов *prx 1* контролирует транскрипционный фактор Nrf2, который также активирует синтез мРНК других антиоксидантных ферментов [314; 315; 318]. Регуляторный путь Keap1-Nrf2 играет центральную роль в регуляции антиоксидантной защиты. В нестрессовых условиях Nrf2 убиквитирован и ассоциирован в Keap1 и быстро деградирует в протеасомах. В условиях окислительного стресса остатки цистеинов молекулы Keap1 окисляются и это приводит к изменению его конформации и диссоциации комплекса Keap1-Nrf2, в результате свободная молекула Nrf2 проникает в ядро и активирует гены. Ядерный фактор Nrf2 регулирует экспрессию большого количества генов, включая гены ферментов детоксикации, включая глутатионтрансферазу, НАД(Ф)Н⁺ хинооксидоредуктазу, антиоксидантные гены ферментов гемоксигеназу-1, пероксиредоксин 1, активность транспорта цистина, митохондриальную креатинкиназу через антиоксидантный чувствительный элемент (antioxidant responsive element - ARE) специфическим для каждого типа клеток образом [323; 342]. Для клеток мозга (астроцитов) нарушение регуляции системы Nrf2 – ARE при окислительном стрессе приводит к нейродегенерации. Перекисные соединения, образующиеся в результате окислительно-восстановительных реакций в клетках, часто выполняют роль вторичных мессенджеров при передаче внутриклеточных сигналов. Так как пероксиредоксины принимают участие в

регуляции уровня пероксидов в клетке, тем самым они участвуют в передаче многих внутри- и межклеточных сигналов [443; 445].

Каталитический цикл пероксиредоксинов протекает достаточно быстро и с ритмом в 24 часа. На первом этапе, в результате восстановления пероксида, тиольная группа активной формы цистеина обратимо окисляется до сульфеновой кислоты (-SOH). Окисление сульфеновой кислоты может идти дальше, до сульфиновой (-SO₂H) и сульфоновой (-SO₃H) кислот. Сульфоновая кислота – это необратимая окисленная форма. Сульфеновая кислота может восстановиться до реакционноспособной формы -SH, а сульфиновая кислота восстанавливается с использованием энергии АТФ. Восстановление -SOH до -SH происходит на втором этапе пероксидазной реакции и образуется потом внутри- или межмолекулярная дисульфидная связь. На третьем этапе образовавшиеся дисульфидные связи восстанавливаются тиолами (тиоредоксины) [446]. В экспериментах *in vitro* для P_{rx}-1 млекопитающих показано, что в реакции восстановления может участвовать глутатион при участии глутатион-S-трансферазы π и *in vivo* также [445]. Благодаря возможности обратимо окисляться и тому, что уровень переокисленных форм пероксиредоксинов меняется с периодом в 24 часа, пероксиредоксины рассматриваются как маркеры клеточных циркадианных ритмов [407]. Физиологическое значение изменения соотношения окисленного и восстановленного пероксиредоксина продемонстрировано на примере P_{rx}-3 митохондрий мышцы, чувствительного к изменениям циркадианных ритмов при стероидогенезе. Адренкортикотропный гормон способствует синтезу кортикостерона под действием цитохрома P-450 и происходит увеличение количества H₂O₂. Это приводит к инактивации P_{rx}-3 в результате его сульфенирования. Значительное увеличение количества пероксида водорода приводит к активации p38 MAPK, что ингибирует синтез стероидных гормонов и продукцию перекиси водорода. Ежедневные осцилляции переокисленной формы P_{rx}-3 также отмечаются в сердечной ткани, бурой жировой ткани [352]. Изменение уровня окисленного состояния P_{rx}-3 в коре надпочечников происходит по циркадианным ритмам, что позволяет на органном уровне регулировать синтез гормонов, независимо от гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Таким образом, гипероксидация является эволюционной адаптацией для выживания клеток аэробов в кислородной среде, где в результате использования кислорода для получения АТФ, неизбежно образуются АФК. Поэтому все чувствительные к кислороду PAS-доменные белки входят в состав часового клеточного механизма. Именно окислительно-восстановительные циклы являются движущей силой эволюции циркадианных систем и поддерживают внутреннюю связь между метаболизмом и часами клетки. Поэтому нарушение системы детоксикации АФК напрямую нарушает основы часового механизма в клетке [236; 419].

Гипероксидированные формы P_{rx} являются зависимыми от НАДФН⁺ и АТФ, соответственно, можно предположить, что ритмы накопления инактивированного фермента связано с количеством этих двух составляющих. Исследование эритроцитов мышей с дефицитом СОД-1 показало, что в условиях повышенного образования АФК нарушается цикл гипероксидации пероксиредоксинов [445]. Поэтому, чтобы понять эту взаимосвязь, необходимо увеличить количество АФК в клетке, то есть создать оксидативный стресс.

Также путем инкубации *O. tauri* (одноклеточный вид морских зеленых водорослей, самые маленькие свободноживущие эукариоты), в условиях транскрипционной остановки, было показано, что колебания P_{rx} в таких условиях сохраняются, то есть независимо от транскрипционно-трансляционной обратной петли (ТТОП). Был сделан вывод, что, по-видимому, механизм ТТОП связан с тканеспецифичностью при адаптационном ответе живого организма на изменения в условиях существования [418].

Как было указано выше, клеточные ритмы связаны с ритмами в окислительно-восстановительных парах, в клеточных никотинамид адениндинуклеотидах НАД⁺(Ф)/ НАДН⁺(Ф)Н⁺. Эти два основных гидридных ионных кофактора обеспечивают примерно 2000 клеточных реакции [433]. НАД⁺ может быть синтезирован либо *de novo* из триптофана, либо восстановлен с использованием ниацина. Также НАДФН⁺ участвует в качестве кофермента в реакциях моно – и поли(АДФ-рибозилирования), а также в НАД⁺-зависимом деацетилировании белка. В различных исследованиях подтверждаются суточные ритмы колебаний в этой окислительно-восстановительной паре [504; 532].

1.1.3 Осцилляции глутатиона

Глутатион – низкомолекулярный тиол-трипептид, состоящий из L-глутамил-цистенил-глицина, и широко представлен в эукариотических клетках. Глутатион присутствует в клетках в миллимолярных концентрациях, служит формой кратковременного хранения аминокислоты цистеина. Глутатион является основным тиолом-буфером и выполняет функцию реостата (механизм «включения-выключения») для управления функцией белка в клетке. Реакции глутатионилирования катализируются тиолтрансферазами. Эти реакции обратимые, поэтому пониженный окислительно-восстановительный потенциал GSH/ GSSG способствует восстановлению дисульфидов в белках, в то время как окислительный потенциал стимулирует глутатионилирование белка [176; 181]. Благодаря способности тиольных групп обратимо изменять свое редокс-состояние, это используется для клеточного контроля окислительно-восстановительного гомеостаза. В клетках глутатион существует в виде окисленной (глутатиондисульфид GSSG) и восстановленной форме (GSH). В физиологических условиях

соотношение GSH/GSSG удерживается в пользу восстановленной формы за счет флавопротеина глутатионредуктазы (ГР, ЕС 1.8.1.7), который использует восстановленный кофермент НАДФН⁺. В ряде исследований установлено, что кинетические характеристики глутатионредуктазы не способны поддерживать соотношение GSH/GSSG в равновесии с соотношением НАДФ⁺/НАДФН⁺, поэтому возможности данной системы кинетически ограничены [196; 241]. Благодаря таким характеристикам глутатион является одной из ключевых молекул в организации окислительно-восстановительного контроля в клетке. В ряде исследований выявлен суточный профиль глутатиона. Колебания GSH наблюдались в печени грызунов, в мозге, в легких, в селезенке, почки, в кишечнике, в поджелудочной железе, в желудке, в плазме крови, а также в тромбоцитах [421; 429; 542]. В мезенцефальной области головного мозга человека колебания глутатиона приписаны постраницационному механизму через действие микроРНК, который контролирует уровень нейрон-специфического мембранного транспортера для цистеина, ограничивающего скорость субстрата для синтеза глутатиона. В тромбоцитах показаны достоверные колебания глутатиона [421]. Считается, что контроль над метаболизмом глутатиона осуществляется с помощью транскрипционного фактора Nrf2. Белок Nrf2 регулирует активность фермента глутамат-цистеин лигазы (GCL), скорость лимитирующего фермента в процессе синтеза глутатиона. Таким образом, циркадианная система регулирует синтез глутатиона *de novo* путем прямого транскрипционного контроля генов, кодирующих субъединицы глутамат-цистеин лигазы, так и модулирует активность холофермента GCL. Пока непонятно, как ритмы синтеза глутатиона зависят от ритмов, генерируемых центральным водителем ритма в супрахиазматических ядрах гипоталамуса, учитывая, что глутатион является основной редокс-системой для поддержания гомеостаза АФК в головном мозге. Также непонятно, каково биологическое преимущество циркадианной регуляции биосинтеза глутатиона? Как один из самых распространённых тиолов в клетке, глутатион выполняет функции не только антиоксиданта, но и участвует во множестве окислительно-восстановительных клеточных функциях [444; 450].

1.1.4 Взаимодействие гипоксии, гипоксия-индуцибельного фактора и циркадианных ритмов

Система клеточных часов функционирует не только для того, чтобы предвидеть изменения светового цикла, но также и для того, чтобы реагировать на изменения в метаболических потоках, но существует явный пробел в понимании того, как циркадианный ритм регулирует адаптацию к гипоксии.

Предположение, что гипоксия и клеточные часы взаимно влияют друг на друга, вытекает из того, что факторы, индуцируемые гипоксией, принадлежат суперсемейству транскрипционных факторов спираль-петля-спираль PER-ARNT-SIM (bHLH-PAS) как и белки часовых генов. Гипоксия-индуцибельные белки (HIF) представлены в виде гетеродимеров, состоящие из HIF1b и HIF1 α , которые связываются с E-box-подобными элементами ответа на гипоксию в промоторах генов *Per2* и *Cry1*, гена ЛДГ [468; 469]. В нормоксических условиях HIF1 α посттрансляционно модифицируется с помощью пролилгидроксилазы и подвергаются протеасомной деградации убиквитин-лигазой E3 Von Hippel-Lindau (VHL). Наоборот, во время гипоксии, когда уровень кислорода ограничен, или во время митохондриального стресса, субъединицы HIF1 α защищены от деградации из-за инактивации кислородзависимых пролилгидроксилаз. Стабилизированный гетеродимер HIF1 α /b активирует пути транскрипции генов, участвующие в ангиогенезе, эритропоэз и анаэробный гликолиз [468].

На основании моделирования *in silico* и *in vitro* предполагают, что часовые белки BMAL1 димеризуются с родственными белками bHLH-PAS HIF1 α и HIF2 α , но происходят ли эти взаимодействия в физиологических условиях неизвестно. Особенно во время упражнений, когда кислородное истощение скелетных мышц увеличивает выработку энергии через HIF-опосредованный анаэробный гликолиз [160; 322; 418]. Комбинация специфических генетических и биохимических для подходов для разного типа клеток выявила взаимодействия между молекулярными часами и белками HIF в аэробном метаболизме. Взаимодействия циркадных часов и HIF регулируют анаэробный гликолиз скелетных мышц во время упражнений и гипоксия реципрокно регулирует циркадианные ритмы функционирования мышц. Выявлены тканеспецифические различия в регуляции использования энергетических субстратов циркадианными ритмами и HIF транскрипционными факторами топлива в циклах сон-бодрствование / отдых-активность. Например, циркадианные часы скелетных мышц могут ограничивать способность скелетных мышц увеличивать выработку энергии в гликолизе через регуляцию передачи сигналов HIF [418].

Способность клеток реагировать на резкие изменения доступности кислорода - важная особенность аэробных организмов. По мере снижения уровня кислорода образование АТФ переходит от митохондриального окислительного фосфорилирования к кислородно-независимому гликолизу, HIF1 α -зависимому процессу. Исследования показывают, что критическую роль в этом процессе обнаруживает циркадианный контроль активности HIF, который может регулировать метаболизм глюкозы в тканях специфическим образом. Например, стимуляция экспрессии *Bmal1b* печени активировала повышенную экспрессию анаэробного гликолитического гена и производство лактата в нормоксических условиях, а в

мышечных клетках обнаружено снижение внеклеточного уровня лактата и экспрессии генов-мишеней HIF1 α [206].

По-видимому, HIF настраивается часами, чтобы более надежно реагировать на гипоксию и изменять активность фактора в то время суток, когда потребность в движении может быть наибольшей или наоборот.

Активация гипоксических сигналов, индуцирует, по крайней мере, две функционально уравнивающие группы генов: одна - гены контргипоксии, такие как *epo*, *vegfa* и *glut1*, которые помогают поставлять больше кислорода на уровне организма, тканей и клеток; другая группа состоит из проапоптотических генов, включая *bnip3*, которые способствуют снижению потребления кислорода. Но, если недостаток кислорода сохраняется или усугубляется, гены, предрасположенные к гибели клеток, активируются, и повреждение тканей расширяется, например, при инфаркте миокарда, в результате некоторого взаимодействия между контргипоксическими и проапоптотическими генами. В нормоксических условиях HIF1 α гидроксильированы EGLN и HIF1AN, что приводит к быстрой деградации белка или потере его транскрипционной активности. Когда возникает гипоксия EGLNs, стабилизированный HIF1 α , димеризуется с ARNT и может активировать гены с промоторами, содержащими HRE. HIF1 α может быть задействован в промоторе PER2 и активировать его транскрипцию, что приведет к нарушению циркадной системы. В свою очередь, транскрипция HIF1 α регулируется белками CLOCK/BMAL1, таким образом, управляя гипоксическими ответами [307,374].

Похоже, что циркадианные часы играют двойную роль в регуляции экспрессии обеих групп генов. Таким образом, система часов функционирует не только для того, чтобы предвидеть изменения во внешнем световом цикле, но также для того, чтобы периферийные часы действовали как реостат для регулирования чувствительности к кислороду в тканях.

На Рисунке 1 отображена предполагаемая модель реципрокной регуляции между циркадианными ритмами и ответом на гипоксию [545].

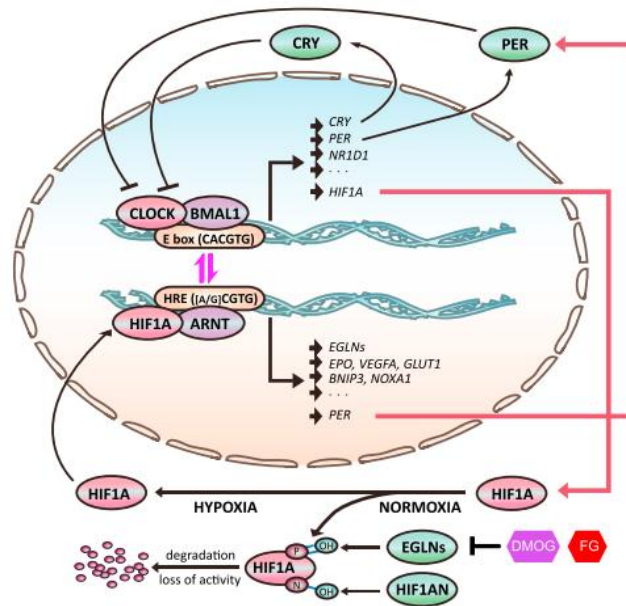


Рисунок 1 – Предполагаемая модель реципрокной регуляции между циркадианными ритмами и ответом на гипоксию [545].

1.1.5 Циркадианные ритмы и метаболизм

Циркадианная ритмика характерна для секреции и эффектов гормонов, важных для обмена веществ и энергии. Между циркадными часами и метаболизмом существует сложная связь. Супрахиазматические ядра гипоталамуса (SCN) как циркадианные «master-clock» важны для циркадного ритма приема пищи, поскольку животные с поражением SCN демонстрируют полное устранение суточных ритмов приема пищи [358; 365]. Неповрежденная циркадная система также важна для суточных колебаний энергетического метаболизма и чувствительности к инсулину. SCN вносит вклад в циркадные вариации поглощения глюкозы и высвобождения инсулина, хотя периферические часы также играют важную роль в этих процессах независимо от SCN [449; 465; 483]. Кроме того, экспрессия многих генов, участвующих в метаболизме глюкозы и липидов имеет циркадианные ритмы [322]. Периферические циркадианные осцилляторы в печени регулируют переключение между окисляющими коротко- и среднецепочечными жирными кислотами во время ночного кормления и накоплением длинноцепочечных жирных кислот в течение периода покоя днем. Помимо циркадианной системы, влияющей на метаболизм, элементы молекулярных часов регулируются факторами метаболической транскрипции на клеточном уровне. Например, транскрипция *Bmal1* ингибируется REV-ERBa, фактором транскрипции, регулируемым адипогенезом, тогда как активируется RORa, ядерным рецептором, участвующим в гомеостазе липидов. Криптохромы (CRY) напрямую регулируются «сенсором» питательных веществ

АМРК, что свидетельствует о тесной взаимосвязи между метаболизмом и циркадными ритмами [250; 284; 298].

Неповрежденные «молекулярные часы» необходимы для сбалансированного и здорового обмена веществ в организме. Затухание ритмичности колебаний «мастер-clock», вызванное, например, воздействием на мышей постоянного света, что привело к сильному снижению уровня энергетического обмена и нарушению чувствительности к инсулину, что способствовало развитию ожирения и диабета. Сбои экспрессии отдельных часовых генов могут иметь глубокие биологические и метаболические последствия [349; 351]. Например, репрессоры криптохромов, реципрокно влияющие на CLOCK – BMAL1 могут влиять на гомеостаз глюкозы подавлением опосредованной глюкокортикоидными рецепторами индукции синтеза глюконеогенных ферментов в печени, тем самым ограничивая вызванную глюкокортикоидами гипергликемию. Молекулярные исследования выявили критическую роль часовых генов *Bmal1* и *Clock* в регуляции метаболизма липидов [327; 330]. Инактивация *Bmal1* подавляет 24-часовые колебания уровня глюкозы в плазме и концентрации триглицеридов и может привести к резистентности к инсулину и непереносимости глюкозы [473; 475]. Мыши с мутацией *Clock* C57Bl6/6J штамм, в котором отсутствует один из основных элементов молекулярных циркадианных часов, быстро набрали вес по сравнению с мышами дикого типа и проявляли признаки метаболического заболевания, включая гиперлептинемию, гипергликемию и гипоинсулинемию, тогда как мутация *Clock* у мышей ICR ослабляла ожирение из-за нарушения всасывания пищевых жиров [517]. Кроме того, специфичная для печени делеция *Bmal1* приводила к гипогликемии и потере ритмической экспрессии регуляторных генов образования глюкозы в печени [350]. Специфичная для поджелудочной железы делеция гена *Bmal1* приводит к повышенному уровню глюкозы в крови в течение дня, нарушению толерантности к глюкозе и снижению секреции инсулина [452], что демонстрирует важность периферических часов в гомеостазе глюкозы. В оптимальной ситуации колебания центральных и периферических осцилляторов синхронизируются. Однако образ жизни и время современного общества 24/7 не всегда позволяют этим ритмам действовать согласованно. Из-за разности «входных» сигналов для центральных и периферических часов, например, изменения времени приема пищи могут привести к рассогласованию периферических «генераторов колебаний» от центрального «мастер-clock». Исследования на грызунах выявили взаимосвязь между нарушениями ежедневного ритма приема пищи с увеличением веса [165; 288]. Также у людей, несогласованное влияние действие факторов внешней среды на циркадианную систему, такие как измененный режим сна и бодрствования, режимы приема пищи и режимы освещения, могут нарушать баланс биологических часов [226; 373]. Действительно, эпидемиологические исследования показали, что вахтовые рабочие подвергаются более высокому риску развития

метаболических нарушений, включая ожирение и диабет 2 типа, что, скорее всего, является результатом внутренней десинхронизации [55; 148]. В печени и почках у крыс для выработки циркадианного ритма глюконеогенного фермента фосфоенолпируваткарбоксикиназы (ФЕПКК) ритм приема пищи более важен, чем цикл свет-темнота [251]. Во время длительного голодания более 80% из 2997 ритмически циклических транскриптов в печени мышей, получавших *ad libitum*, притупляются, что указывает на то, что потребление пищи действительно вносит важный вклад в ритмическую экспрессию печеночных транскриптов [525]. Эти «печеночные» транскрипты являются продуктами, как прямого контроля внутренних циркадианных часов, так и косвенного гомеостатического ответа (т. е. кормления) [161]. В печени 14% «ритмических» транскриптов зависят от общих системных сигналов, тогда как 86% зависят от локальных осцилляторов, на которые может влиять, например, питание [341].

Десинхронизация между периферическими и центральными часами может привести к нарушению связанности экспрессии метаболических генов (например, *Ppara*) и часовых генов в органе, что, формирует молекулярную основу для нарушения метаболизма [458]. В подтверждение этого факта, у крыс линии Вистар было обнаружено, что, как принудительная активность, так и ограниченное кормление во время покоя приводило к нарушению взаимосвязи между SCN и печенью, а также между часовыми генами *Bmal1*, *Per1*, *Clock* и метаболическими генами, например, *Ppara*, в печени, что способствует развитию метаболических нарушений, таких как ожирение [459]. Логично предположить, что в клетках печени, где синтезируются отдельные компоненты clock-осциллятора, clock-белки могут выполнять другие, не связанные с осцилляцией функции. Например, *Per2* может связываться с ядерными рецепторами PPAR γ , PPAR α , и REV-ERB α , контролируя метаболические процессы соответственно в белой жировой клетчатке и печени [552; 559]. При этом большинство ядерных рецепторов синтезируются в циркадианном ритме. Белок *Per1* в печени мышей *in vivo* и *in vitro* на гепатоцитах линии AML12 блокирует подавление активности *Clock/Bmal1* белком *Cry2*, а также регулирует активность PPAR α и DEC1 [499]. Белок *Cry1*, пик синтеза которого приходится на ночное время повышенной пищевой активности у грызунов, подавляет глюконеогенез в гепатоцитах через подавление активации Gs α и сопряженной с ней аденилатциклазы гормонами, действующими через сопряженные с G-белками рецепторы и стимулирующими глюконеогенез. Снижая уровень цАМФ, *Cry1* подавляет экспрессию генов ферментов глюконеогенеза (фосфоенолпируваткиназы и, особенно, глюкозо-6-фосфатазы) и уменьшает риск гипергликемии в условиях повышенного поступления углеводов с пищей [520; 548].

Влияние белков CLOCK/BMAL1 на экспрессию ферментов может быть опосредовано действием ключевой гистоновой метилтрансферазы MML3, транскрипция гена которой

контролируется белками clock-осциллятора [168; 191]. Показано, что белок Clock, обладающий свойствами гистоновой ацетилтрансферазы (кроме гистона H3, также ацетирует и активирует ряд митохондриальных белков, включенных в метаболизм аминокислот и жирных кислот, цикл трикарбоновых кислот, гликолиз и глюконеогенез [397]. Цикл трикарбоновых кислот, протекающий у эукариот в митохондриях, относится к циклическим саморегулирующимся метаболическим временным процессам, переключая катоболические реакции метаболизма на энергетический обмен через НАД⁺/НАДН⁺ с выходом на синтез АТФ и другие процессы синтеза. Кроме того, белки CLOCK/BMAL1 через E-box промотора контролируют транскрипцию гена кофермента никотинамидфосфорибозилтрансферазы (NAMPT), который на определенной фазе циркадианного ритма приводит к росту уровня НАД⁺ и активации НАД⁺-зависимой гистоновой деацетилазы SIRT-1 (silent information regulator 1, sirtuin 1) в цитоплазме и SIRT-3 и -4 в митохондриях, а также НАД⁺-АДФ-рибозил трансферазы1 (или PARP-1, поли [АДФ-рибоза] полимеразы 1) [397]. Таким образом, часовой осциллятор, изменяя содержание и активность NAMPT, а также SIRT-3 и SIRT-4, деацетилирующих и активирующих ферменты митохондрий, в циркадианном ритме, обуславливает вариации уровня окислительных процессов и концентрацию НАД⁺ в клетке. SIRT-1 в цитоплазме деацетирует белки CLOCK, BMAL1, PER2 и PGC-1 α . Это приводит к ослаблению свойств гистоновой ацетилтрансферазы у белка CLOCK [433] и, следовательно, взаимодействия белков в димере CLOCK/BMAL1 с последующим снижением сродства Bmal1 к E-box. Однако деацетилованный PGC-1 α активируется и совместно с ROR α , метаболическим сенсором и транскрипционным фактором, активирует транскрипцию гена *bmal1*. Кроме того, PER2, деацетилованный SIRT-1, подвергается убиквитированию и протеасомному протеолизу, что уменьшает репрессорное воздействие на транскрипционную активность CLOCK/BMAL1 [412]. Также сам PER2, кроме его функций как осциллятора, регулирует уровень гликогена в печени при голодании [494].

Установлена циркадианная ритмика синтеза гормонов щитовидной железы, кортиколиберина, кортикотропина, глюкокортикостероидов, андрогенов и эстрадиола, гормон роста и инсулина [147; 150; 391]. Установлено, что по обратным связям гормоны участвуют в транскрипции clock-белков и в процессах их посттрансляционной модификации, способствуя формированию и поддержанию ритмов, и, следовательно, опосредуя свои эффекты через clock-белки.

Таким образом, существование периферических часов в органах, знание того, что их синхронизация определяется метаболическими сигналами, и тот факт, что многие гены находятся под циркадным контролем транскрипции, дает возможность предположить, что молекулярные часы участвуют в адаптации организма к изменению метаболических потребностей в течение дня [351]. Кроме того, поскольку периферические часы, в основном,

зависят от времени кормления и голодания, возможно изменение времени, количества или состав потребляемой пищи может нарушить функционирование клеточных часов. Для всех периферических генераторов эндогенного времени характерно доминирование метаболизма углеводов и липидов как основного эндогенного источника энергии, тогда как внешнее влияние света и температуры оказывают на них лишь опосредованное воздействие и не всегда выраженное. Совокупность эндогенных временных метаболических процессов формирует метаболическое время как часть эндогенного времени организма.

В основе формирования циркадианного ритма двигательной активности, сна и бодрствования лежат синаптические связи между СХЯ и соответствующими нервными центрами, а также околосоточные метаболические ритмы в нервной, гормональной и иммунной системах. Существование экспрессии *clock*-генов в нейронах структур всех отделов ЦНС усиливает локально сигналы от супрахиазматического ядра (СХЯ) как циркадианного «мастер-*clock*». Синаптические связи его с висцеральными центрами гипоталамуса и ствола, спинного мозга и симпатическими и парасимпатическими ганглиями и входы к нему с периферии от интерорецепторов обеспечивают подстройку ритмов висцеральных функций к околосоточным ритмам света и возможность синхронизации с ритмами обмена веществ и энергии [478; 483]. На примере системы сетчатка – супрахиазматическое ядро гипоталамуса очевидно, что на уровне данного тканевого пейсмекера благодаря межклеточным и межструктурным прямым и обратным связям появляется способность не только синхронизировать генераторы разных уровней организма и генерируемые ими временные процессы, но также подстраивать их к уровню освещения как источнику экзогенной энергии и оценивать длительность светового дня [496].

Проведенные исследования указывают, что метаболический гомеостаз не поддерживается, если компоненты клеточных часов отсутствуют или функционируют неправильно [353; 452; 449], а нарушение циркадного ритма может привести к таким расстройствам, как сахарный диабет, ожирение, сердечные заболевания. И наоборот, нарушения обмена веществ, такие как ограничение потребления энергии, нарушение потребления пищи, способствует сбрасыванию периферических часов почти полностью. Метаболические и циркадные процессы тесно связаны, но механизмы этого взаимодействия не расшифрованы [4; 152; 349; 501].

1.2 Методические подходы к моделированию световых десинхронозов

Исследования циркадианных нарушений с использованием различных биологических моделей позволяют более строго контролировать условия эксперимента для изучения вклада

циркадианного нарушения отдельно, так и в сочетании с другими факторами. Наиболее часто в хронобиологии в качестве тест-систем используют мелких лабораторных животных, таких как домовая мышь, сирийский хомяк и белая крыса. Исследования также проводят на плодовой мухе *Drosophila melanogaster*, на одноклеточных организмах (динофлагеллят *Gonyaulax polyedra* (ныне: *Lingulodinium polyedrum*), *Neurospora Crassa*, на недифференцированных эмбриональных стволовых клетках мыши (mESCs), на фотосинтетической водоросли *O. tauri*, с использованием пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, на ануклеарных клетках крови – эритроцитах [158; 163; 177; 234; 256; 259; 266; 268; 347].

Одним из ключевых направлений трансляционных исследований является изучение механизмов, которые лежат в основе формирования взаимосвязей в хроносистеме организма, развития десинхроноза при изменении ритмики внешних ритмозадателей, и возможности фармакологической коррекции десинхронизации. Точное знание молекулярных основ биологических часов облегчает перенос экспериментальных результатов в практическую медицину. Нарушения внутренних ритмов организма обычно связаны изменениями длительности светового дня, режимом питания, изменениями двигательной активности.

При разработке экспериментальной модели необходимо выбрать адекватные маркеры десинхроноза с целью определения фазы циркадианного цикла, ее сдвига после воздействия, терапевтического воздействия фармакологического препарата при коррекции десинхроноза. Классически, в качестве таких маркеров используют уровни экспрессии часовых генов *Per1*, *Per2*, *Clock*, *Bmal1*, *Cry1*, *Cry2*, *Rev-erba*, *Rev-erbb*, *Ror*, подконтрольных им генов, генов miРНК, GSK3 β , SKI ϵ в клетках СХЯ гипоталамуса, в надпочечниках, в печени, в двенадцатиперстной кишке, в толстой кишке. В модельных экспериментах на крысах используют уровень мелатонина в сыворотке или плазме, уровень 6-сульфатоксимелатонина в моче, уровень кортикостерона в моче, сыворотке и в плазме крови, уровень гормона роста в плазме, уровень тиреотропного гормона в плазме [170; 172; 214; 302; 316].

Но циркадианная система, состоящая из центральных и периферических клеточных осцилляторов, координирует физиологические функции через активацию тканеспецифических транскрипционных программ. Циркадианные ритмы влияют на регуляцию многих биохимических и физиологических процессов, включая энергетический метаболизм, иммунную систему, сердечно-сосудистую систему, секрецию гормонов, репродуктивную функцию, выделительную систему, пролиферацию клеток, двигательную функцию и когнитивные процессы. Поэтому циркадианные часы представляют собой более сложную систему, чем изначально представляется, поэтому требует анализа на разных уровнях организации жизни. Новые методы исследования биоритмов выявили взаимодействия более высокого порядка, благодаря которым элиминация одного компонента в системе может быть компенсирована

другими компонентами и другим способом. Именно этим обусловлена важная роль дополнительных петель обратной связи и генных сетей в придании хроносистеме надежности и стабильности. Благодаря связи между клетками выявлены эмерджентные свойства циркадианных ритмов и использования этого как буфера для защиты от мутаций, различного рода повреждений, связанных с воздействиями различной природы, различной интенсивностью, длительностью [168; 178; 198].

Открытие автономных окислительно-восстановительных ритмов, проявляемых белками пероксиредоксинами, пример транскрипционно-независимых колебаний, найденные в организмах от архей до человека, предполагают тесную связь между циркадной ритмикой и окислительно-восстановительным метаболизмом. Понимание взаимосвязи циркадианных осцилляторов с различными метаболическими и окислительно-восстановительными процессами циклы могут дать ценную информацию, ответить на актуальные вопросы. Как взаимодействуют нетранскрипционные и транскрипционные часовые механизмы? Каковы механизмы, лежащие в основе реципрокной регуляции нетранскрипционных циркадных часов и энергетических путей? Оказывают ли циркадианные окислительно-восстановительные колебания влияние на цикл активность-покой? Как дисфункции в циркадианных часах связаны с различными заболеваниями, включая метаболические такие расстройства, как сахарный диабет, метаболический синдром, нарушения сна? Ответить на эти вопросы, исследуя часовые механизмы только на транскрипционном уровне с использованием мутантных мышей и моделей плодовых мух невозможно.

Многочисленные метаболические пути и уровни метаболитов, многие физиологические процессы, включая цикл сна-бодрствования, температура тела, кормление, поведение, находятся под циркадианной регуляцией. Большое количество публикаций подчеркивает, что например, ограниченное кормление у мышей сохраняет ритмы в печени у животных с деструкцией супрахиазматических ядер гипоталамуса [161]. Это подтверждается исследованиями, показывающими, что ограниченное кормление влияет на сдвиги фаз, как в ритмах двигательной активности, так и циркадианной транскрипции генов в периферических осцилляторах, но не влияет на ритмы в СХЯ. Кроме того, у мышей, находящихся на диете с высоким содержанием жиров, изменяется двигательная активность и экспрессия канонических и управляемых часами генов. У человека достаточно трех недель циркадной диссинхронии для снижения скорости метаболизма в покое и нарушения концентрации глюкозы в плазме крови. Такие симптомы обычно связывают с началом сахарного диабета или метаболического синдрома. Таким образом, метаболические изменения непосредственно влияют на транскрипционный осциллятор, но молекулярный механизм такой связи непонятен.

Из всех биохимических параметров, которые изменяются в зависимости от циркадианных ритмов – показатели окислительно-восстановительного баланса, энергетического метаболизма, представляются самыми «яркими» кандидатами. В ряде публикаций в качестве маркеров используются активность изоферментов пероксиредоксинов, их различные гипероксидированные формы, активность ферментов антиоксидантной защиты, соотношение коферментов НАД⁺/НАДН⁺, осцилляции глутатиона, молекул АТФ, активность никотинамид фосфорибозилтрансферазы, семь изоформ ферментов деацетилаз (SIRT1-7), активность АМФ-активируемой протеинкиназы, гем оксигеназы 1, уровни экспрессии транскрипционных факторов Nrf2 (ядерный эритроидный фактор2), SREBP-1 (связывающий регуляторный элемент стерола), (NF)-κB (ядерный фактор каппа В), AP-1 (активирующий белок-1), HIF1α (гипоксия-индуцибельный фактор1α) [361; 362; 381; 396; 416].

Одним из основных периферических биохимических осцилляторов является печень. Поэтому колебания многих показателей, обнаруживаемых в плазме крови, связано с изменением их синтеза в печени. Например, ферменты АЛТ, АСТ, ЩФ, показатели общего белка, альбуминов, глюкозы. Обнаруживают ритмическую осцилляцию в печени ферменты микросомальной фракции, белка Nrf2, ферментов синтеза глутатиона.

Для установления цикличности маркеров биоритма и других исследуемых показателей используется косинор-анализ – метод, основанный на синусоидальной аппроксимации [85].

Вышеописанные маркеры нарушения можно использовать для моделирования основных типов нарушений циркадианных ритмов.

Нетрадиционные графики работы (сменная работа, вахты, частые командировки, чередование смен). В то время как посменные рабочие могут заставить себя бодрствовать ночью и спать днем, это часто влечет за собой снижение бдительности и эффективности сна. Несмотря на способность соответствовать ожидаемым поведенческим требованиям сознательными усилиями, у большинства вахтовиков не происходит соответствующего сдвига в циркадной функции и нарушается ритм «активность – покой».

Сменная работа может быть смоделирована на лабораторных животных с помощью использования инверсии смен цикла свет-темнота. Статическая ночная рабочая смена может быть смоделирована путем инверсии смен цикла свет-темнота с использованием бегущего колеса (физическая нагрузка), ограниченным доступом к еде (изменение времени приема пищи), изменение качественного состава пищи (диета с высоким содержанием жиров или углеводов), изменение протоколов обучения в поведенческих тестах. Такие подходы будут способствовать явному несоответствию с внешней средой, изменению временной связи между СХЯ (центральным осциллятором) и периферическими тканями [458; 459; 465].

Трансмеридианные путешествия. После трансмеридионального путешествия биологические часы человека постепенно перестраиваются на новый часовой пояс и временное несоответствие между внутренним временем и внешними условиями вызывают симптомы смены часовых поясов, которые могут длиться от нескольких дней до нескольких недель (джетлаг). Обычно требуется 1 день для корректировки каждого пересеченного часового пояса и задержка восстановления работоспособности при путешествии в восточном направлении, хотя на степень и тяжесть смены часовых поясов может влиять множество личных и поведенческих факторов. Кроме того, многие люди страдают от «социального джетлага» – несоответствие между социальными требованиями и изначально предпочтительным временем для активности или покоя. Имитация смены часовых поясов у грызунов обычно создается путем смещения цикла свет-темнота на 4–11 часов либо в восточном направлении, либо в западном направлении (задержка). Моделирование цикла свет-темнота обычно требует больше времени для корректировки на моделях грызунов. 12-часовой сдвиг светового режима вызывает полную инверсию и обычно возможна повторная синхронизация циркадианного ритма в направлении задержки, но это варьируется в зависимости от вида. Исследования обнаружили, что симуляция смены часовых поясов вызывает различные формы нарушения циркадианного ритма, включая временное несоответствие между внутренними и внешними факторами среды, рассогласование между различными тканями, составляющими циркадианной системы, смещение нейронных осцилляторов внутри СХЯ, и рассогласование между молекулярными компонентами циркадианного ритма. Кроме того, некоторые виды сибирских хомяков при условии соблюдения определенного протокола смены часовых поясов, не будут повторно синхронизироваться и, вместо этого, останутся постоянно смещенными или станут полностью аритмичными [221; 293].

Нарушения сна и бодрствования. Заболевания, связанные с нарушением синхронизации с внешним циклом свет-темнота и вместо этого люди живут ациркадианной ритмикой, с присущим периодом, отличным от 24 ч. Это приводит к прерывистому рассогласованию между внутренним временем и внешними условиями. У человека воздействие не 24-часовых циклов свет-темнота могут вызвать внутреннюю десинхронию, когда разные ритмы протекают независимо друг от друга (например, температура тела, мелатонин и ритмы сна/бодрствования) для того, чтобы он был синхронизирован с внешней средой освещения и с другими аритмичными факторами. Чаще всего такие пациенты испытывают циклические паттерны дневной сонливости и ночного бодрствования, наряду с психическими симптомами и когнитивным дефицитом. Моделирование такого несоответствия между внутренним временем и внешним может быть получено при воздействии не равных 24 часовым циклам свет-темнота. Поскольку циркадианная система способна вовлекаться в циклы, отличные от суточных,

воздействие внешних не 24-часовых световых циклов, вызывают «свободный дрейф» ритмов с прерывистым и временным согласованием внутренней и внешней среды [306; 343; 355].

Воздействие света ночью является особенностью условий окружающей среды, встречающихся как в экологических, так и в промышленных условиях. Годовые колебания продолжительности дня влекут за собой изменения продолжительности воздействия дневного света, хотя использование искусственного света у людей может ослабить/или усилить сезонные изменения. Показано, даже тусклый свет ночью может сбросить циркадную фазу и подавить выработку мелатонина у людей. Поэтому частое воздействие искусственного света ночью влияет на циркадианные функции. Одной из классических циркадианных манипуляций в моделировании является воздействие условий постоянного освещения или постоянной темноты, которое вызывает десинхронию у людей. У грызунов воздействие постоянного света может удлинять циркадианный период, может вызвать аритмию или вызвать «расщепление» поведенческих и физиологических ритмов, при этом большее воздействие света происходит при сверхкоротких циклах свет-темнота (например, цикл 3,5 ч свет и 3,5 ч) [368; 389; 400; 521].

Генетические модели мутаций транскрипционного осциллятора, могут привести к дефициту в пределах от измененного периода до полного отсутствия циркадианной ритмики. Первая генетическая модель, которая была обнаружена - это хомяк-мутант тау (*Mesocricetus auratus*), с необычно ранним началом двигательной активности. После перевода из цикла свет-темнота в постоянную темноту это животное продемонстрировало эндогенный период свободного хода 22 часа по сравнению с 23,5 часами, самым коротким для этого вида, что демонстрирует сокращение периода на 2 часа с каждой копией мутировавшего гена из-за снижения фосфорилирующей способности кazeинкиназы 1ε [362]. С развитием молекулярных методов, было создано множество моделей мышей которые отображают измененную функцию циркадных часов. В самых крайних случаях эти мышинные модели аритмичны в условиях постоянной темноты (например, нокаутная мышь *bmal1*, мышь-мутант с часами, *per1/per2*/мышь). Эти модели не имеют самоподдерживающихся циркадианных ритмов, но, тем не менее, могут проявлять ежедневно изменения в поведении и физиологии при поддержании 24-часовых циклов свет-темнота из-за маскирующих эффектов света и темноты. При удалении только одного паралога часового гена (например, *per1*) может привести к изменению периода и к атипичному выравниванию с 24-часовым циклом. Эти последние модели могут представлять особый интерес для устранения последствий нарушения циркадных ритмов, поскольку общая функция часов остается неизменной, но изменяется, таким образом, который нарушает временную связь с окружающей средой. Действительно, некоторые исследования показали, что когда автономные циркадные колебания отдельных нейронов СХЯ устраняются при мутациях

основных часовых генов, межклеточных связей достаточно, чтобы выявить стохастические, квазициркадные колебания как эмерджентное свойство сети СХЯ [186; 330].

Таким образом, целенаправленные мутации часовых генов помогают определить роль каждого компонента молекулярного осциллятора, но последствия этих нарушений порою непредвиденные. Например, животные с только двойным нокаутом *Per1/Per2* испытывают поведенческую и молекулярную аритмичность в постоянных условиях темноты. Двойной нокаут *Bmal1* у мышей приводит к поведенческой аритмии при постоянной темноте и нарушению молекулярных ритмов экспрессии генов. Действительно, *Bmal1* единственный часовой ген, потеря функции которого вызывает немедленную потерю циркадного локомоторного поведения при постоянной темноте.

Анализ только молекулярных (РНК/белков) ритмов у моделей (мышей) с мутациями в основных генах циркадианных часов недостаточно, не принимают во внимание различия центральных и периферических осцилляторов, потенциальные межклеточные взаимодействия в продуцировании наблюдаемых фенотипов или в обнаружении уникальных свойств отдельных клеточных осцилляторов [170; 283; 328].

Новые методы, позволяющие осуществлять непрерывный мониторинг циркадных ритмов в культивируемых тканях и в отдельных клетках, в режиме реального времени с помощью билюминесцентной технологии, выявили многие свойства часов, не очевидные только из поведенческого или из молекулярного анализов [524].

Хирургические модели, нацеленные на оперативное удаление СХЯ головного мозга, исторически использовались в моделях грызунов, чтобы понять последствия полной потери циркадных ритмов. Благодаря методам билюминесценции *in vivo* визуализировали необходимость СХЯ для фазовой синхронности между органами, а удаление СХЯ вызывает десинхронизацию клеточных осцилляторов, приводящую к сокращению амплитуды ритмов билюминесценции [483]. По-видимому, существует множество путей, по которым СХЯ используется для захвата и синхронизации периферийных генераторов [391; 483].

По-видимому, существует множество путей, которые СХЯ используют для увлечения и синхронизации периферийных генераторов. Существует множество ответных элементов в промоторах генов *per1* и *per2*, которые обеспечивают механизмы, за счет которых можно «сбросить» часы между внутри- и межклеточными сигналами. Например, через катехоламины, адреналин и норадреналин, СХЯ увлекают периферические органы путем регуляции экспрессии генов через MAP-киназный сигнальный каскад [509]. «Сброс» часов через этот путь, однако, требует экспрессии адренорецепторов в периферических тканях. Ритмическая секреция глюкокортикоидов также регулируется через СХЯ. Этот путь является идеальным для синхронизации СХЯ гипоталамуса и периферических часов, так как глюкокортикоидные

рецепторы обнаружены в большинстве периферических тканей, кроме СХЯ. Благодаря этому механизму СХЯ могут вызывать фазовые сдвиги в периферийных часах и синхронизировать их к циклу свет-темнота [212; 351]. Аналог дексаметазона форсколин обычно используется в таких исследованиях *in vitro* для синхронизации биоритмов клеток. Однако наряду с тем, что глюкокортикоидные рецепторы и адренергическая передача сигналов важны для процессов синхронизации, адrenaлэктомированные мыши все еще способны генерировать ритмы в периферических тканях, что указывает на наличие избыточных механизмов, которые принимают участие в периферической синхронизации [310].

Для исследования десинхронозов, как было описано выше, используются разные модельные организмы, но выбор номер один – это мышь. Но с течением времени выяснилось, что у большинства линий мышей отсутствуют ферменты, необходимые для синтеза мелатонина, но экспрессируются функциональные рецепторы для этого гормона.

В проведенном нами исследовании в качестве модельного животного используется лабораторная крыса. Крупномасштабные геномы подтверждают единое происхождение лабораторной крысы, возможно, от сестринской группы до диких крыс из Европы, Африки, Ближнего Востока. Геномный и транскриптомный анализы выявили высокую активность множества искусственно отобранных генов (например, *foxp2*, *b3gat1*, и *clock*), участвующие в формировании нервной системы. Эти гены связаны с энергетическим обменом, со способностью к пространственному обучению, памяти и регуляцией циркадианного ритма, что, вероятно, позволило успешно приручить лабораторную крысу [558; 560; 563].

За последние годы был достигнут значительный прогресс в понимании генетики циркадианных часов млекопитающих внутри клеток и их взаимосвязи с метаболизмом. Как указывалось ранее, генетические удаления часовых генов могут привести к плеiotропным эффектам, и поэтому эти результаты трудно интерпретировать. Кроме того, обмен веществ является не только результатом генетики биологических часов, но и результатом взаимодействия метаболитов и периферических сигнальных молекул. Конечным результатом может быть стабилизация циркадного часового механизма, либо усиление его десинхронизации. Очень вероятно, что в ядродержащих клетках транскрипционный и окислительно-восстановительный осцилляторы тесно связаны между собой и для того, чтобы создать единую однозначную клеточную временную базу, это нарушение будет взаимное и оказывать влияние друг на друга. Но по-прежнему остаются непонятным взаимодействие между часами на всех уровнях - от единичных клеток до межклеточных взаимодействий внутри ткани, о свойствах часов на тканевом уровне и, наконец, на уровне поведения. Следует отметить, что в большинстве случаев делеция часовых генов приводит к общему увеличению внутриклеточных АФК и окислительных процессов, нарушается гомеостаз АФК и

толерантность к окислительному стрессу в различных тканях. Известно, что примерно 20% протеома печени у мышей подвергается циркадианному контролю, особенно генов, кодирующих ферменты, но количество почти половины циклических белков не коррелируют с таковыми их циклических транскриптов [435; 436].

Данный факт предполагает, что транскрипция некоторых компонентов циркадианных часов не требуется для индукции и поддержания циркадианных ритмов. Таким образом, взаимодействие между циркадными часами и окислительно-восстановительным состоянием клетки включает как транскрипционные, так и нетранскрипционные колебания в эукариотических клетках. Окислительно-восстановительное состояние обусловлено главным образом метаболическим статусом, и кажется, что сам метаболизм управляет колебательной структурой пероксиредоксинов, и, следовательно, циркадианным ритмом, независимо от регуляции транскрипции. С целью изменения окислительно-восстановительного гомеостаза в проведенной работе была использована модель светового десинхроноза с усилением «окислительного давления», искусственно изменяя окислительно-восстановительное состояние, путем введения тиопентала натрия в полулетальной дозе.

1.3. Характеристика тиопентала натрия

Тиопентал натрия (синонимы: тиопентобарбитал, тиопан, фармотал, тентотал натрий, тиопентен, тиопентон натрий, тионан, тиопанал, трапанал и др.) – производное барбитуровой кислоты, средство для неингаляционного наркоза ультракороткого действия (Рисунок 2) [97; 98].

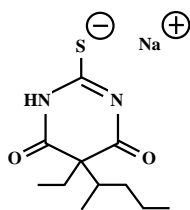


Рисунок 2 – Структурная формула тиопентала натрия

Фармакокинетика. Тиопентал натрия при поступлении внутрь всасывается уже в желудке и хорошо связывается с белками плазмы крови, на 78-86%. Тиопентал натрия способен преодолевать гематоэнцефалический барьер. Период полувыведения из плазмы варьирует от 5-9 мин в фазе распределения, в фазе элиминации – 3-8 ч. Величины объема распределения тиопентала натрия – 1,7-2,5 л/кг [81; 95].

Барбитураты короткого действия почти полностью метаболизируются в печени. Окисление и гидролиз барбитуратов в печени инициируют ферменты монооксигеназной

системы. Например, фенобарбитал окисляется при участии изоферментов CYP2C9 и CYP2C19 с последующей глюкуронизацией (до 75% от принятой дозы), оставшиеся 25% элиминируются почками в неизменном виде [95; 97]. Приведенные соотношения могут зависеть от принятой дозы, от состояния организма и сопутствующего употребления иных лекарственных средств и прочего.

Фармакодинамика. Считается, что фармакологические эффекты барбитуратов обусловлены их влиянием на ГАМК_A/бензодиазепин/рецепторный комплекс. ГАМК_A-рецепторы относятся к типичным ионотропным рецепторам. Гликопротеиновый комплекс рецептора, скорее всего, состоит из 5 субъединиц, принадлежащих к определенному типу (α , β , γ , δ , ρ , ϵ , θ , π), которые, в свою очередь, делятся на ряд подтипов (изоформ). В головном мозге млекопитающих идентифицированы α_{1-6} , β_{1-3} , γ_{1-3} и δ -субъединицы. Субъединицы γ_2 представлены двумя подтипами, которые различаются длиной формирующей полипептидной цепи: γ_{2L} (long) и γ_{2S} (short). Эти особенности предопределяют гетерогенность ГАМК_A-рецепторов, различающихся по своим морфо-функциональным характеристикам, по чувствительности к агонистам, антагонистам, аллостерическим модуляторам. Это объясняет также особенности фармакологической активности различных лигандов ГАМК_A/бензодиазепин/ионофорного комплекса.

В структуре ГАМК-ионофорного комплекса традиционно выделяют места специфического связывания ГАМК_A-агонистов, ГАМК_A-антагонистов, бензодиазепиновый участок, участки для связывания блокаторов хлор-ионофора, барбитуратов, нейростероидов, мелатонина, этанола, антидепрессантов, полиненасыщенных жирных кислот. Барбитураты оказывают многостороннее влияние на ГАМК-ергические нейромедиаторные системы. Это касается содержания аминокислоты в нервной ткани, скорости ее высвобождения из пресинаптических окончаний, обратного захвата. В опытах *in vitro* продемонстрирована способность барбитуратов изменять специфическое связывание лигандов ГАМК/ионофорного комплекса. По-видимому, фармакодинамический профиль препаратов определяется как пресинаптическими, так и постсинаптическими модулирующими эффектами на систему ГАМК [81].

Острые тяжелые отравления барбитуратами характеризуются развитием коматозного состояния, которое характеризуется отсутствием роговичного, сухожильного, болевого и зрачкового рефлексов, также, наблюдается уменьшение чувствительности к углекислому газу и, как следствие, угнетение дыхательного центра и хеморецепторов каротидного клубочка. При остром тяжелом отравлении барбитуратами дыхание сохраняется за счет импульсов,

получаемых с хеморецепторов каротидного клубочка и аортальных телец, которые возбуждаются под действием гипоксии [37; 87; 97].

Отдаленные нарушения ЦНС при тяжелых отравлениях тиопенталом натрия связывают с гипоксией, поражением биологических мембран и нарушением микроциркуляции [481]. При этом развитие гипоксии происходит по гипоксическому типу (угнетение дыхательного центра), циркуляторному типу (за счет сердечно-сосудистой недостаточности). Ацидотические сдвиги, нарушения микроциркуляции могут сопровождаться ухудшением утилизации кислорода в тканях из-за нарушения переноса электронов на уровне коэнзим Q-цитохром С оксидоредуктазы, а также снижением активности сукцинатдегидрогеназы, нарушением функции митохондрий [82; 87; 99; 100], нарушением синтеза АТФ, гибели нейронов [100]. В результате развивается тканевая гипоксия. Доказано, что после острых отравлений нейротоксикантами развивается циркуляторная гипоксия вследствие нарушения проведения нервного импульса, угнетения сосудодвигательного центра, развития судорог и нарушения тканевого дыхания в миокарде [87; 97; 98; 109].

Все вышеизложенное позволяет сделать вывод, что гипоксия играет ключевую роль в патогенезе развития последствий после острого отравления данным нейротоксикантом и является фактором, запускающим процессы нарушения обмена веществ на всех уровнях регуляции [28; 87; 79].

Другим механизмом повреждения и гибели нервных клеток при отравлении тиопенталом натрия является активация образования активных форм кислорода в условиях гипоксии. В результате оксидативного стресса и цитотоксического повреждения в токсикогенной стадии запускаются процессы программированной гибели нервных клеток (апоптоз) [78; 155]. Это в свою очередь определяет развитие отдаленных последствий, в том числе и органических поражений головного мозга [87; 156].

В настоящее время считается, что комплексным синдромом тяжёлых отравлений веществами с нейротоксическим действием является острая церебральная недостаточность (ОЦН), механизм развития которой является результат воздействия как специфических, так и неспецифических механизмов поражения головного мозга [28].

Неспецифические механизмы включают в себя расстройства биоэлектрогенеза, нарушения мозгового кровотока, метаболические расстройства, нарушения процессов свободно-радикального окисления, эндогенную интоксикацию и иммуносупрессию на фоне гипоксии. К специфическим механизмам относится избирательное действие веществ на различные звенья нейромедиаторных систем (пре- и постсинаптического уровней). Реализация таких эффектов зависит от дозы и времени экспозиции токсиканта, действия внешних факторов [28; 87].

1.4. Фармакологическая коррекция нарушений циркадианных ритмов

1.4.1 «Хронобиотики» прямого действия

Фармакологическая коррекция циркадианных нарушений преследует цель внутренней синхронизации биологических часов различных тканей, равно как и внешней синхронизации с окружающей средой. Предложен хронобиологический подход к терапии различных патологических состояний, включающий мультикомпонентную стратегию, промотирующую хронофитнесс, и дальнейшие исследования в развитии персонализированной медицины, связанной с нормализацией биологических ритмов. В настоящее время делаются попытки фармакологической коррекции десинхронозов и связанных с ними психо-эмоциональных расстройств, а также сочетанной соматической патологии.

Учитывая, что основная роль «дирижеров» в мультисцилляторной модели циркадианной ритмики отведена гормону эпифиза – мелатонину и СХЯ гипоталамуса, то неудивительно, что наибольшее число исследований и рекомендаций коррекции циркадианного десинхроноза посвящено гормону эпифиза — мелатонину [242].

Гормон эпифиза, мелатонин, эндогенный индоламин, вырабатывается в темноте, продуцируется из триптофана, и играет ключевую роль в регуляции циркадианных ритмов, генерируемых СХЯ [8189]. Мелатонин выполняет множество функций, включая хронобиотическую, антиоксидантную и нейропротекторную, оказывает противовоспалительный эффект, уменьшает повреждения, вызванные оксидативным стрессом [180]. Мелатонин выделяется в общий кровоток и в спинномозговую жидкость [189]. Молекула мелатонина не только проходит через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), но способна входить в различные субклеточные компоненты, такие, как митохондрии и эндоплазматический ретикулум. Мелатонин снижает секрецию лептина и инсулина. Многообразны также пути контроля мелатонином редокс-статуса клетки: через активацию антиоксидантных ферментов, супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы, прямое связывание радикала гидроксила ($\text{OH}\cdot$) и гидроперекиси H_2O_2 , а также генерирующих радикалы металлов, в первую очередь, хелатированных Cu(II) и Fe(III) [254; 285; 286; 308]. Мелатонин обладает антиоксидантной, противоопухолевой, иммуномодулирующей, противотревожной, антидепрессивной и гипногенной активностью. Отсутствие токсичности мелатонина делает его очень привлекательным для использования в профилактике нарушений физиологических функций при трансмеридианальных перелетах [472]. Исследованию свойств мелатонина посвящены тысячи работ, и каждый может сделать самостоятельный выбор тактики профилактических мероприятий для предотвращения десинхроноза, связанного с пересечением часовых поясов.

Анализ литературы показывает, что при приеме мелатонина сдвиг суточного цикла сон-бодрствование человека происходит на несколько часов в ту или другую сторону [287; 293; 364]. Своевременное использование мелатонина может способствовать быстрой настройке биологических часов организма на новый ритм. Можно выделить общее в рекомендациях по приему мелатонина для профилактики джетлага: при перелетах на расстояние менее 3 часовых поясов применение мелатонина малоэффективно; при перелетах в восточном направлении, на 3–6 поясов рекомендуется прием 0,2 мг мелатонина перед сном по местному времени для сдвига фазы суточного ритма вперед; при перелетах в западном направлении, на 3–6 часовых поясов рекомендуется прием 0,1 мг мелатонина сразу после полуночи по местному времени, если человек не спит в это время, для предупреждения раннего пробуждения в утренние часы, характерном при таких перелетах, для сдвига суточной фазы назад; при перелетах в любом направлении, на 7–12 поясов применение мелатонина может усилить дизритмию (синоним «внутренний десинхроноз») и ухудшить субъективное состояние человека [182; 254].

Мелатонин определяет для организма продолжительность ночи, усиливая синхронизацию центральных циркадных часов, а также способствует контролю сезонных функций. Свет и мелатонин оказывают противоположное влияние на синхронизацию циркадного ритма. Воздействие световых импульсов вечером приводит к задержке фазы, а воздействие утром – к опережению фазы. Напротив, прием экзогенного мелатонина вечером приводит к опережению фазы, а прием утром – к задержке фазы. Таким образом, экзогенный мелатонин действует как хронобиотик, сдвигая фазу внутренних часов. Кроме того, экзогенный мелатонин обладает снотворным эффектом, который зависит от фазы циркадианного цикла, во время которой принимается препарат [182; 356].

Дозы экзогенного мелатонина $\leq 0,5$ мг и 1 - 5 мг считаются физиологической и фармакологической, соответственно. Прием препарата в физиологической и фармакологической дозе в фазе циркадианного цикла, когда уровень эндогенного мелатонина максимальный, не приводит к улучшению качества сна. Однако прием экзогенного мелатонина, в фазе циркадианного цикла, когда уровень эндогенного мелатонина минимальный, повышает сонливость [192; 193].

Прием экзогенного мелатонина в фармакологической дозе (1-5 мг) после перелета перед сном ускоряет адаптацию организма при трансмеридиальном перелете на восток [237]. В работе Burgess H. J. с соавторами показано, что фармакологическая концентрация мелатонина предпочтительнее для сдвига фазы, но в случаях, когда необходимо уменьшить снотворный эффект, возможно применение физиологической дозы [193].

Прием мелатонина перед сном после перелета на запад при пересечении менее 6-8 часовых поясов может оказаться неэффективным, поскольку введение мелатонина оказывает

наименьший фазовый сдвиг, когда он перекрывается с эндогенной секрецией. В таких случаях рекомендуется прием фармакологической дозы мелатонина сразу после пробуждения. Кроме терапевтического приема мелатонина показана эффективность профилактического приема экзогенного мелатонина в дозе 0,5 мг за несколько дней до перелета, в то время, которое совпадает с отходом ко сну в пункте назначения. Возможно также сочетание профилактического и терапевтического приема. Мелатонин индуцирует периферическую вазодилатацию, что в свою очередь приводит к повышению температуры кожи и снижению температуры ядра, что является эффективным сигналом для сна, обладает также антиоксидантными и онкостатическими свойствами [343; 441].

У млекопитающих мелатонин связывается с двумя мембранными рецепторами, связанными с G-белками, *mell1a* (MT1) и *mell1b* (MT2) и ядерными рецепторами ROR α /RZR β . Мишенями действия разрабатываемых препаратов для лечения нарушений сна и десинхронозов являются мембранные рецепторы, находящиеся в СХЯ и периферических органах [252].

Показано, что мелатонин может эффективно действовать в случае головной боли, вызванной различными причинами, в особенности при кластерной головной боли и мигрени [386]. Однако есть работы, отрицающие участие экстра-эпифизарного мелатонина и мелатонина, поступающего с пищей, в регуляции функции биологических часов позвоночных [276].

Болезнь Альцгеймера (БА) – нейродегенеративное заболевание, характеризующееся отложением β -амилоида в экстрацеллюлярном матриксе и тау-белков в нейронах. В развитии БА играет роль множество факторов, таких как семейные мутации, оксидативный стресс и посттрансляционные изменения. Предполагается, что мелатонин, как антиоксидант и нейропротектор, может играть положительную роль в терапии БА, регулируя ферменты, вовлеченные в перекисное окисление и защиту митохондрий от гипероксигенации. Показано также, что болезнь Паркинсона характеризуется и немоторными симптомами, такими как расстройство сна и циркадианных ритмов. Фотопигмент меланопсин и фоторецепторы сетчатки, принимающие участие в регуляции биологических ритмов организма, повреждаются у пациентов с болезнью Паркинсона уже на ранней стадии. Таким образом, гены, регулирующие циркадные ритмы, могут служить мишенями для фармакологической коррекции при данных нейродегенеративных заболеваниях. В экспериментах обнаружено, что симпатэктомия, световая депривация, гибернация и введение мелатонина оказывают ингибирующий эффект на канцерогенез [285; 287].

Для лечения и предупреждения джетлага исследуются синтетические агонисты мелатониновых рецепторов: Рамелтеон® для лечения бессонницы, характеризующейся трудностью засыпания [325], Агомелатин® для лечения депрессии и связанного с ней

расстройства сна [425] и Тасимелтеон® для лечения расстройства сна-бодрствования у слепых [425]. Рамелтеон имеет в 3-16 раз больше сродство к рецепторам MT1/MT2, чем сам мелатонин, кроме того период полувыведения тоже выше чем у мелатонина. В исследовании Richardson с соавторами было показано, что рамелтеон способен эффективно сдвигать фазу циркадианного цикла человека. Однако на четвертый день применения препарата у всех испытуемых была значительно снижена мгновенная память по сравнению с группой плацебо [448]. Тасимелтеон, также является синтетическим агонистом MT1/MT2 рецепторов. Эффективность тасимелтеона в уменьшении симптомов джетлага была показана в рандомизированном контролируемом исследовании. Препарат хорошо переносится, не вызывает нарушения функционирования на следующий день или зависимости и безопасен при краткосрочном лечении [430].

Агомелатин является агонистом не только серотонинового рецептора 5HT_{2c}, но и MT1/MT2 рецепторов. Благодаря этому этот антидепрессант обладает хронобиотическим действием. Тем не менее, применение агомелатина при джетлаге мало изучено [508].

1.4.2 Пептидные препараты эпифиза

Роль эпифиза мозга в организме человека, несмотря на интенсивное изучение, окончательно не определена. Известно, что пинеалоциты (клетки эпифиза) содержат ферменты и субстраты, чувствительные к колебаниям уровня освещения вокруг человека. Поступающие по нервным путям сигналы воздействуют на ритмическую деятельность эпифиза, который в свою очередь оказывает регулирующее влияние на нейроэндокринную систему. Ранее гормональные эффекты эпифиза объясняли действием меланотонина и других индольных производных, но исследования с заместительной терапией на фоне возрастной инволюцией эпифиза или операционным удалением эпифиза у животных показали, что основную роль могут играть продуцируемые эпифизом нейропептиды. Именно пептидные фракции, вводимые в качестве средств заместительной терапии, способствовали восстановлению функций эндокринной и иммунной систем. Во многих случаях действие эпифизарных нейропептидов реализовывалось через подкорковые образования мозга за счет тонкой регуляции гормонального баланса гипоталамо-гипофизарной системой [7; 40; 42; 143; 145]

Дефицит эпифизарных нейропептидов сопровождался снижением продолжительности жизни лабораторных животных, более быстрым угасанием детородной функции, снижением иммунорезистентности, усилением спонтанного карцерогенеза [42].

Комплекс водорастворимых полипептидов, выделенный из эпифизарной области головного мозга телят и свиней зарегистрирована в России как лекарственное средство и выпускается под торговым наименованием Эпиталамин [141].

Эпиталамин регулирует процессы метаболизма в эпифизе, повышает чувствительность гипоталамуса к эндогенным воздействиям, способствует нормализации функции передней доли гипофиза и содержания гонадотропных гормонов, повышает устойчивость организма к стрессорным воздействиям, замедляет процессы старения. Показаниями к применению эпиталамина являются дисгормональная миокардиодистрофия, гиперплазия эндометрия, бесплодие, в менопаузе, при хронических стрессорных расстройствах, для повышения активного долголетия. Представляется перспективным препаратом для применения в невропатологии, психиатрии, гериатрии. Форма выпуска – лиофилизат для приготовления растворов для инъекций по 10 мг во флаконах [143].

На основании анализа аминокислотных последовательностей пептидов, входящих в состав комплексного препарата эпифиза эпиталамина, была выявлена повторяющаяся последовательность, с которой во многом была связана специфическая активность эпиталамина. Полученный методами направленного синтеза тетрапептид Ala-Glu-Asp-Gly зарегистрирован в качестве синтетического аналога эпифизарных пептидов (Эпиталон) и обладает большей биологической активностью, чем эпиталамин. Кроме показаний, характерных для эпиталамина, Эпиталон оказывает тканеспецифическое действие на сетчатку глаза (улучшение функционального взаимодействия пигментного эпителия и наружных сегментов фоторецепторов при дистрофических изменениях сетчатки) [143; 144].

Установлено, что эпиталамин стимулирует у молодых самцов крыс синтез эпифизом серотонина, N-ацетилсеротонина, мелатонина и ночную секрецию мелатонина у взрослых и старых крыс. Препараты эпифиза оказывают благоприятное влияние на липидный и углеводный обмен. У кроликов под действием эпиталамина снижается уровень инсулина и триглицеридов в крови, толерантность к глюкозе повышается.

Исследовали действие эпиталона на личинок *D. Melanogaster*. Было выявлено, что активность каталазы была выше после воздействия на личинок тетрапептидом эпиталон. Снижение интенсивности свободнорадикальных процессов в организме взрослых мушек, которые вывелись из получавших эпиталон личинок, способствовало увеличению продолжительности жизни и снижению процессов старения [144; 326].

Совокупность данных при изучении пептидных препаратов эпифиза эпиталамина и эпиталона свидетельствуют о том, что они изменяют функции эпифиза, проявляют геропротекторные свойства [326].

1.4.3 Орексины

Орексины или гипокретины — возбуждающие нейропептиды, открытые в конце 1990-х годов независимо и одновременно двумя исследовательскими группами. Группа Сакурай (1998) идентифицировала эти новые нейропептиды с помощью хроматографии и назвала их «орексинами» (OrxA и OrxB), от греческого слова «orexís», означающего «аппетит», из-за их способности стимулировать прием пищи и контролировать обмен веществ [456; 457]. Первоначально орексины описывались как регуляторы поведения при кормлении, последующие исследования обнаружили, что дефицит орексина или рецептора орексина вызывает нарколепсию у разных видов млекопитающих, демонстрируя, что орексины играют важную роль в регуляции сна и состояния бодрствования. Более поздние исследования выявили ключевую роль орексинов в широком спектре биологических функций, таких как регуляция эмоциональных состояний, энергетический гомеостаз, двигательные и вегетативные функции, механизмы вознаграждения, привыкание, внимание, система возбуждения, режим сна и бодрствования организма [487]. По различным оценкам, у людей количество орексиновых нейронов колеблется от 50 тыс. до 80 тыс, которые локализуются в гипоталамусе и проецируются на несколько областей мозга и на все отделы спинного мозга. Наиболее плотные отростки распространяются на моноаминергические и холинергические ядра в стволе головного мозга [208].

Активация орексина в начале активной фазы суток не только облегчает бодрствование, но и адаптирует периферический метаболизм глюкозы к активной фазе. Дефицит орексина вызывает нарушения сна, ожирение и нарушением толерантности к глюкозе у человека и мышей [208; 284; 289; 357]. Изучение орексинергической системы явилось толчком к разработке новых лекарственных средств. Суворексант – синтетический антагонист орексиновых рецепторов A/B, был разработан для лечения нарушений сна, связанных с засыпанием [292]. Это первый снотворный препарат, который подавляет пробуждение, воздействуя на орексинергическую систему. Показана его эффективность в терапии нарушений засыпания и поддержания сна [292]. Для терапии нарколепсии 1 типа, которая обусловлена частичной необратимой потерей орексиновых нейронов, разрабатываются препараты, которые являются агонистами орексиновых рецепторов. На животной модели было показано, что терапия орексином *per os* или внутривенно неэффективна, так как это нейропептид не проникает через гематоэнцефалический барьер. Однако при интратекальном введении мышам, у которых была индуцирована гибель орексиновых нейронов, орексин продлевал фазу бодрствования до 3 часов [292]. В настоящее время также разрабатываются новые перспективные непептидные агонисты орексиновых рецепторов с применением *per os*

[392; 398; 409; 490]. В будущем применение агонистов орексиновых рецепторов в качестве стимуляторов может представлять интерес для краткосрочного поддержания физической и умственной работоспособности после трансмеридиального перелета [490].

Мелатонинергическая система является антагонистом орексиновой системы. Нейроны, продуцирующие орексины, и нейроны, продуцирующие меланинконцентрирующий гормон, тесно переплетаются в латеральной и перифорникальной областях гипоталамуса. Популяции этих нейронов имеют различные функции, но проецируются на одни центры сна/бодрствования. Активность орексиновых нейронов при бодрствовании выше, чем во сне, что согласуется с их ролью в стимулировании бодрствования. С другой стороны, нейроны, продуцирующие меланинконцентрирующий гормон, активны во сне, и, вероятно, инициируют переход ко сну. Было показано, что оптогенетическая активация нейронов меланинконцентрирующего гормона индуцирует сон у мышей и крыс. Это может служить доказательством того, что данные нейроны могут подавлять не только выброс орексина, но и других нейротрансмиттеров пробуждения. Последние исследования предполагают, что меланинергическая система станет следующей мишенью для создания хронобиотиков [164].

1.4.4 Терапевтический потенциал низкомолекулярных модуляторов циркадианной системы

Оперативной единицей циркадной системы млекопитающих является клеточно-автономная молекулярная система. Осциллятор (Рисунок 3), обнаружен не только в нейронах водителя ритма СХЯ, но и практически во всех других периферических клетках [173; 554].

Циркадные часы восприимчивы к разнообразному набору входных сигналов [173], поэтому новые низкомолекулярные модуляторы могут быть использованы для управления клеточными часами. Под низкомолекулярными модуляторами понимаются: кофакторы транскрипции, эпигенетические регуляторы и ферменты, участвующие в различных этапах экспрессии генов [383]. Различные регуляторы, модифицирующие гистоны (например, ацетилирование, метилирование и моноубиквитинирование и их соответствующие обратные модификации) и изменяющие активность ремоделирования нуклеосом участвуют в циркадной регуляции [235; 416], особенно E-box во время цикла транскрипции [333; 501].

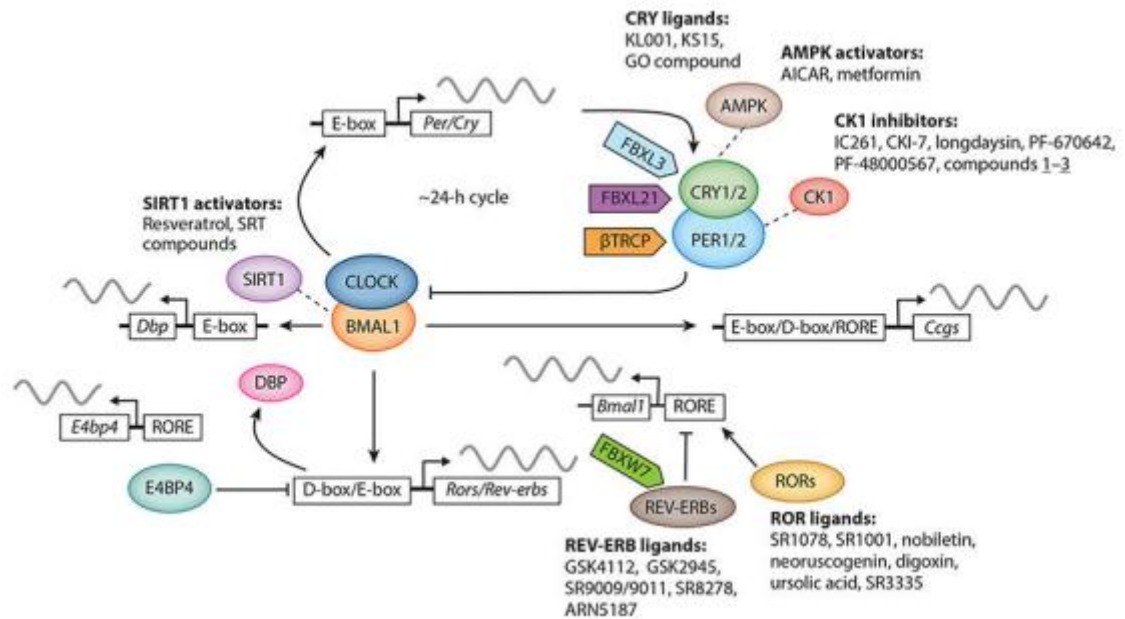


Рисунок 3 – Основные и регуляторные компоненты циркадианного осциллятора и репрезентативные низкомолекулярные модуляторы. Генератор циркадных часов состоит из петли транскрипционно-трансляционной обратной связи, включая основную петлю (белки BMAL1/CLOCK/NPAS2 и PER/CRY), ядерные рецепторы-реципрокная регуляция транскрипции гена *bmal1* (BMAL1/CLOCK, REV-ERB и ROR). Различные белковые регуляторы и лиганды регулируют основные компоненты клеточных часов [211].

Сокращения: BMAL1 (Brain and Muscle Arnt-like protein 1); CLOCK (Circadian Locomotor Output Cycles Kaput), CRY (криптохром); DBP (D-box binding protein); E4BP4, E4 promoter-binding protein 4; NPAS2 (neuronal PAS protein 2); PER (period); ROR (RAR-related orphan receptor).

Также посттранскрипционные и посттрансляционные механизмы играют ключевую регулируемую роль в деградации PER и CRY [253; 337], определяющим продолжительность циркадианного периода. Белки PER фосфорилируются киназой 1 (CK1) до их протеасомной деградации белками F-box β-TRCP1/2 [253]. Точно так же белки CRY являются субстратами AMPK (43), и их последующая деградация координируется паралогичными белками F-бокса FBXL3 и FBXL21 антагонистическим образом [194; 263; 294; 477; 553]. Как показано на примере ингибиторов CK1, эти ключевые регуляторы циркадных часов являются отличными мишенями для разработки малых молекул воздействия на клеточные часы.

Взаимосвязь между осцилляцией СХЯ и периферических тканей [359], например, с помощью вазоинтестинального пептида, синтезирующийся в СХЯ [561] оказывает большую устойчивость к генетическим «возмущениям» и «шумам» по сравнению с одноклеточными осцилляторами [330; 537; 554].

1.4.5 Идентификация низкомолекулярных модуляторов клеточных часов

Циркадная система хорошо поддается «сбросу» сигналов под воздействием сигналов из окружающей среды и сигналам внутриклеточной среды, например, флавинадениндинуклеотид (ФАД⁺), гем, холестерин действуют как естественные лиганды для CRY, REV-ERB и RORs [242; 334]. Низкомолекулярные молекулы могут модулировать циркадные часы непосредственно через воздействие на осциллятор или будут проявлять плейотропные эффекты отдельно от циркадной функции. Основная группа малых молекул, модулирующих часы, это те, которые изменяют и особенно удлиняют циркадный период. Фенотипические скрининги идентифицировали широкий спектр соединений, показывающих влияние на циркадный период, фаза и/или амплитуда [164; 291; 297; 316; 547]. В соответствии с генетическими данными, показывающими ключевую роль PER и CRY в регуляции циркадного периода, соединения, влияющие на уровни белков PER/CRY, были обнаружены в ходе нескольких химических скринингов. Например, были выявлены многочисленные ингибиторы киназ, которые сильно удлиняли циркадный период [297; 316; 547], соединения, которые значительно ускоряют или задерживают действие циркадных ритмов в разных точках метаболического пути, включая киназы (например, киназу, регулируемую внеклеточным сигналом и Ca²⁺/кальмодулин-зависимую протеинкиназу II), аденилатциклаза и фосфодиэстераза [211]. Кроме того, исследователи использовали высокопроизводительный скрининг, чтобы обнаружить группу сульфонамидных соединений, опсинамидов, которые препятствуют связыванию сетчатки с меланопсином и ингибируют его фоторецепторные функции и *in vitro* и *in vivo* [321]. Также были описаны *Per* – независимые пути перенастройки циркадных часов, и соединения - модуляторы (например, SB432542), которые используются для этих целей [337; 477].

На основании скрининга клеточных фенотипов идентифицировано несколько молекул, увеличивающих амплитуду циркадианных ритмов [213]. Одна группа таких соединений потенцирует соответствующие клеточные и тканевые ритмы [212], и соединения бензимидазола, в частности, являются мощными периферическими агонистами рецепторов мелатонина.

Производные бензимидазола были получены путем замены индольного кольца мелатонина на бензимидазол. Эти производные имеют низкую липофильность, обладают высокой биодоступностью, хорошей селективностью и отсутствием ингибирования со стороны цитохромов P450 при пероральном или внутривенном введении. Таким образом, данные соединения при пероральном введении в дозе 100 мг/кг оказывают воздействие на периферические осцилляторы, что проявляется в уменьшении уровня триацилглицеридов в печени, в отсутствии генотоксичности, и влияния на поведение животных [244].

Было выявлено, что натуральный флавоноид нобилетин (НОБ) и его аналог тангеретин обладают такими же характеристиками, изменяют амплитуду циркадианных ритмов [291]. НОБ увеличивает амплитуду колебаний мРНК и белка, как в клетках фибробластов, так и в печени, а также установили, что рецепторы ROR (Retinoid-related orphan receptors ROR α , β , and γ) являются прямыми мишенями для НОБ, подтверждая тем самым важную функцию ROR в регуляции циркадной амплитуды. Несмотря на взаимодействие НОБ-ROR, НОБ-опосредованная активация генов-мишеней для ROR включает как активацию и основных часовых генов (например, *Bmal1*), так и в целом, генов, контролируемых часами [291].

Химическая модификация некоторых молекулярных структур привела к появлению различных лигандов, нацеленных на связывание с белками REV-ERB и ROR с улучшенной специфичностью и эффективностью [334]. Например, сообщается, что третичные амины функционируют как агонисты REV-ERB α [257; 269; 378; 486]. Однако для многих из этих модифицированных лигандов REV-ERB и ROR их влияние на циркадные часы плохо изучено.

1.5 «Хронобиотики» непрямого действия

Функция супрахиазматических ядер как ведущего водителя суточных колебаний физиологических функций обеспечивается в их тесном взаимодействии с множеством центров головного мозга, участвующих в формировании адаптивного приспособительного поведения. В организацию этих отношений включены различные нейромедиаторы, моноамины, регуляторные пептиды, возбуждающие и тормозные аминокислоты. Поэтому в конечном итоге супрахиазматические нейроны обладают рецепторами практически ко всем биологически активным веществам, описанными в мозге. Информация об изменении светового режима может передаваться от супрахиазматических ядер различным циркадианным подсистемам, каждая из которых осуществляет ритмические колебания той или иной функции. Так, например, отношения СХЯ с ядрами лимбической системы (ведущий компонент – гиппокамп) будут выражаться в эмоциональном поведении. Выявлены реципрокные отношения пейсмекера с полосатым телом (стриатумом), что отражается в психомоторных актах и поведенческой ритмике [20]. Поэтому ряд антидепрессантов, регуляторных пептидов априори должны обладать выраженной хронотропной активностью. Десинхронизация биоритмов также связана с гипоэнергетическим и гипоксическим статусом клеток. Поэтому препараты, способствующие повышению уровня устойчивости клеток к неблагоприятным воздействиям внешней среды, также обладают хронобиологической активностью.

В проведенном исследовании для коррекции светового десинхроноза был использован экстракт гипофиза Северного оленя, у которого считается, что пинеальная продукция

мелатонина в значительной степени контролируется световым режимом, что вовлекает в данный процесс различные пептиды [489; 494].

Регуляторные пептиды – вырабатываемые организмом соединения, которые выполняют важные нейромедиаторные, модулирующие и интегративные задачи. Они являются связующим звеном между основными системами организма (нервной, эндокринной, иммунной). Значимость регуляторных пептидов существенно возрастает при воздействии на организм негативных факторов (стрессы, повреждения) [46; 57; 106].

В гипоталамусе специфика клеточного и тканевого уровней генерации временных процессов определяется воздействием света на меланопсиновые рецепторы сетчатки глаза; получением информации на рецепторы/сенсоры нутриентов и метаболитов в гипоталамических нейронах и астроцитах об уровне метаболизма и потреблении энергии на периферии. Различные ядра гипоталамуса секретируют регуляторные пептиды, обладающие высокой биологической доступностью и активностью. Например, вазопрессинергические аксоны из СХЯ регулируют секрецию гипофизарного лютеинизирующего гормона, а в передневентральном перивентрикулярном ядре (AVPV) активируют нейроны, секретирующие гонадолиберин и экспрессирующие рецепторы к вазопрессину (V1a), эстрадиолу (Era) и кисспептину (kissP1) [50; 106; 117].

Пептиды признаны высоко избирательными, эффективными, селективными веществами, и в то же время относительно безопасными, чем объясняется повышенный интерес к пептидам в фармацевтических исследованиях.

Механизмы фармакологической активности пептидных комплексов и коротких пептидов весьма сложны [140]. Пептидные биорегуляторы предназначены для выполнения определенных функций. Эти клеточные регуляторные молекулы эффективны в максимально низких дозах, обладают высокой селективностью действия, не вызывают выраженных побочных эффектов, легко выводятся из организма без образования токсических продуктов [21; 22; 117]. Для объяснения эффектов пептидов была предложена гипотеза о том, что в основе действия регуляторных пептидов лежит синактонный механизм. Термин синактон (греч. *syn* — «вместе», лат. *act(io)* — «действие», греч. *on* — «сущее») предложен И.П. Ашмариным с соавторами в 2006 году [22].

Примером такого подхода является история создания гептапептида семакса. Обнаружение нейропротекторных и психотропных свойств у пептидов семейства меланокортинов. Меланокортины – это семейство гормонов, образованных из общего предшественника, молекулы проопиомеланокортина. К ним относится группа меланоцитостимулирующих гормонов (α -, β - и γ -МСГ) и адренокортикотропный гормон (АКТГ). АКТГ, α - и β -МСГ имеют общую N-концевую последовательность аминокислот —

МЕНFRWG, которая соответствует фрагменту АКТГ4-10 [66]. Было показано, что именно она является основной детерминантой биологической активности меланокортинов, связанной с их способностью влиять на обучение, мотивацию, концентрацию внимания, социальное поведение и проявлять нейропротекторные свойства в моделях экспериментальной ишемии [3; 56; 66; 57]. Будучи синтетическим производным природных меланокортинов, семакс сохранил психотропные и нейропротекторные свойства АКТГ/МСГ [66]. Большую роль в регуляции выживания, дифференцировки и поддержания функции нейронов играют нейротрофические факторы [66; 387]. Экспрессия их генов меняется под действием семакса. В глиальных клетках, полученных из базальных отделов переднего мозга новорожденных крыс, через 30 минут после обработки семаксом *in vitro* уровень мРНК мозгового нейротрофического фактора (BDNF) повышался в восемь раз по сравнению с контролем, а уровень мРНК фактора роста нервов (NGF) – в пять раз [470]. *In vivo* интраназальное введение семакса в дозах 50 и 250 мкг/кг через 3 часа приводило к увеличению уровня BDNF в гиппокампе, базальных отделах переднего мозга, но не в мозжечке [228; 229]. Влияние на базальную экспрессию генов *ngf* и *bdnf* специфично не только для каждого участка мозга, но может изменяться в зависимости от времени после введения пептида [476]. Активация экспрессии генов компонентов нейротрофиновой системы под действием семакса может способствовать нейропротекции и выживанию нервных клеток после ишемии [66]. Все физиологические процессы регулируются комплексами различных эндогенных соединений, действующих в определенной последовательности и сочетаниях [66]. В основе нейропротекторных и нейротрофических эффектов семакса может лежать усиление этим пептидом функциональной активности системы биогенных аминов и увеличение содержания в мозге нейротрофических факторов. Кроме того, пептид существенно влияет на экспрессию генов, ассоциированных с процессами иммунного ответа, воспаления, репарации ДНК, нейротрансмиссии, функционирования сосудистой системы, регуляции содержания кальция в клетках и др. Направленность этих эффектов такова, что они противодействуют нарушению работы генов, которое вызвано такими патологическими факторами, как стресс и ишемия [57; 66].

Для использования в медицинской практике семакс зарегистрирован только в Российской Федерации и выпускается в виде назальных капель «Семакс 0,1%» и «Семакс 1%» («Пептоген», Россия). Концентрированный раствор назначают преимущественно при инсультах, 0,1% раствор применяется для профилактики и лечения более легких нарушений мозгового кровообращения и в качестве ноотропного средства у здоровых людей. Применение семакса в комплексной терапии острого ишемического инсульта приводит к более быстрому восстановлению нарушенных неврологических функций, особенно двигательных [57; 58; 66; 106; 119]. Применение пептида при цереброваскулярной недостаточности уменьшает частоту

проявления таких клинических симптомов, как головные боли и головокружение, и снижает риск развития инсульта и транзиторных ишемических атак в течение заболевания [58; 66].

Действие пептидов, действующих в синактоне, значительно расширяет регуляторный потенциал исходной молекулы и прокладывает путь к созданию новых медицинских препаратов с учетом индивидуальных особенностей организма. Направленность действия препарата, его высокая эффективность и такой подход должен обеспечивать предотвращение неблагоприятных побочных эффектов [22].

Среди средств, относящихся к пептидным биорегуляторам, интерес представляют препараты на основе эпифизарных и гипоталамо-гипофизарных нейропептидов. Это адренотропный гормон и его синтетические аналоги, ангиотензин, натрийуретический пептид, пролактин, меланотропин, соматотропин, тимотропин, вазоактивный интестинальный пептид, вазопрессин, глюкагон, инсулин, интерлейкины, кортиколиберин, тиролиберин, люлитропин, нейропептид У, нейротензин, окситоцин, опиоидные пептиды, соматостатин, соматолиберин и его синтетические аналоги, тафцин, тимозин, тимусный гуморальный фактор, тимоген, холецистокинин, эндорфины, энкефалины и многие другие олигопептиды [117; 118; 133; 135]. Большинство из них вырабатывается в гипоталамо-гипофизарной системе.

В настоящее время большое внимание уделяется изучению препаратов, представляющих собой вытяжки или экстракты из тех или иных тканей организма. Они состоят из комплексов пептидов различной величины, длина и состав пептидов в подобных комплексах могут меняться. Первоначально физиологически активные вещества были обнаружены в ткани головного мозга. Позже аналогичные по природе и физическим свойствам соединения были обнаружены и в других тканях организма: тимусе, костном мозге, селезенке, лимфатических узлах, сетчатке глаза, в надпочечниках, в кишечнике, простате [46; 50; 55]. Эти препараты способны модифицировать структурно-метаболические комплексы нейрона (антигипоксические, антиоксидантные эффекты, усиление синтеза белка, влияние на нейромедиаторные системы и пр.), что в конечном итоге реализуется в реакциях системно-организменного уровня: анксиолитическое, ноотропное, антидепрессантное действия [103; 153].

Таким образом, существует большое разнообразие циркадиальных ритмов, которые каждый день синхронизируют внутренние часы организма с внешними сигналами. К ним относятся патофизиологические, экологические, фармакологические сигналы, а также измененный образ жизни. Они активируют множество сигнальных путей, многие из которых являются тканеспецифичными, и перезапускают периферические часы. Световой режим является доминирующим, однако асинхронность с другими циркадиальными ритмами приводит к внутреннему нарушению циркадного ритма, что может иметь серьезные последствия для здоровья. Эти наблюдения являются частью знаний о циркадиальных ритмах и предполагается, что возможна

подстройка и синхронизация различных сигналов для восстановления функционального состояния организма.

Существующие на сегодняшний день варианты фармакологической коррекции функционального состояния организма при изменении светового режима не учитывают сложную архитектуру циркадианных ритмов. Модуляция циркадианной системы мелатонином не способствует синхронизации при длительном изменении светового режима. Более того ставится под сомнение воздействие экстра-эпифизарного мелатонина и мелатонина, поступающего с пищей, в регуляции функции биологических часов позвоночных [276]. Многие традиционные анксиолитики бензодиазепинового ряда отрицательно воздействуют на моторику и память. Исследования коррекции циркадианной аритмии пептидами представлены немногочисленными исследованиями.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данном разделе диссертационной работы содержится описание методов постановки экспериментов, забора биологического материала для различных исследований, процедур обработки биологического материала для определения соответствующих аналитов, методы статистической обработки результатов.

2.1 Выбор и содержание животных.

Экспериментальное исследование выполнено на 1200 половозрелых крысах-самцах линии «Wistar» массой 160 – 300 г. из питомника РАМН «Рапполово». Длительность акклиматизационного периода для животных составляла 14 дней. Животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики». Животные содержались в стандартных условиях вивария по 6 особей в клетке при естественном световом режиме и на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище. Круглогодично в помещении вивария поддерживается относительная влажность 50–65% и температура воздуха 20–25 °С. Эксперименты проводились в весенний период 2015 – 2017 года (март – апрель). Все процедуры с животными выполнялись в утренние часы (с 9:00 до 12:00 по местному времени) согласно правилам и рекомендациям гуманного обращения с животными, используемым для экспериментальных и научных целей. Уход за животными и их кормление обеспечивали штатные сотрудники лаборатории биохимической токсикологии и фармакологии ФГБУ НКЦТ имени академика С.Н. Голикова ФМБА России.

Для маркировки животных использовали спиртовой раствор пикриновой кислоты. Сопоставимость экспериментальных групп обеспечивали рандомизацией выборок, использовавшихся в экспериментах.

Выбор животных для экспериментов определялся следующими факторами:

1. Крысы являются стандартной тест-системой в биологических исследованиях.
2. Геномные и транскриптомные исследования выявили высокую экспрессию генов у лабораторной крысы, связанных со способностью к обучению, регуляцией циркадианных ритмов, генов, ответственных за энергетический обмен. Благодаря данным изменениям, лабораторные крысы легко приспосабливаются к среде обитания человека [558]
3. Крысам присущ общественный характер существования.
4. Крысы населяют практически все биотопы и имеют возможность адаптироваться к различным неблагоприятным условиям окружающей среды.
5. Крысам присуща круглогодичная активность.

2.2 Моделирование «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза и экспериментальная фармакологическая коррекция функционального состояния крыс

Моделирование «усиления окислительного давления» в условиях длительного светового десинхроноза проводили путем острого отравления тиопенталом натрия крыс массой 180-220 г. в течение 1 и 3 месяцев после однократного введения тиопентала натрия в дозе LD50 (85 мг/кг) внутривентриально [28].

Состояние животных при введении тиопентала натрия в полубезлетальной дозе соответствовало коме глубокой степени. Через 1-5 минут после введения тиопентала натрия в дозе 85 мг/кг массы тела экспериментальные животные принимали боковое положение. Через 10 минут у них фиксировалось отсутствие роговичного, через 15 минут – болевого рефлексов. Через 5 минут отмечались снижение частоты дыхания до 2-4 в минуту и нарушение его ритма. У животных развивалась отчетливая тенденция к брадикардии с максимальным снижением частоты сердечных сокращений (ЧСС) до 36-54 ударов в минуту (уд/мин) через 1-1,5 часа. Выход выживших животных из тиопенталовой комы (восстановление ритма и глубины дыхательных движений, увеличение ЧСС, появление пароксизмов двигательной активности – движения хвоста и конечностей) на фоне сохраняющегося бокового положения отмечался через 6-7 часов [81].

Выживших животных помещали в клетки по 10 животных в каждой, со свободным доступом к воде и пище. Последующие 1 и 3 месяца животные содержались в условиях с разным световым режимом: контрольная группа – обычное освещение (8.00-20.00 час – светодиодное освещение 500 лк, 20.00-8.00 час - темнота), группы с измененным световым режимом: постоянное освещение (темновая депривация), постоянная темнота (световая депривация). Для проведения исследований в группе «постоянная темнота» использовался красный свет [74; 245].

Для фармакологической коррекции изменений при действии стресс-фактора – светового десинхроноза животным в течение 14 дней вводили один из следующих препаратов: KSE-02 - сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота, мелатонин, пептидный экстракт гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*). KSE-02 в дозе 100 мкг/кг, интраназально, 1 раз в сутки, мелатонин - в дозе 100 мкг/кг, интраназально, 1 раз в сутки, пептидный экстракт гипофиза Северного оленя – 100 мкг/кг интраназально [77; 127; 129; 154]. Дозировки для введения фармакологических субстанций взяты из данных литературы [526; 474]. KSE-02 синтезирован в лаборатории медицинских проблем химической безопасности ФГБУ НКЦТ им. ак. С.Н. Голикова ФМБА России группой

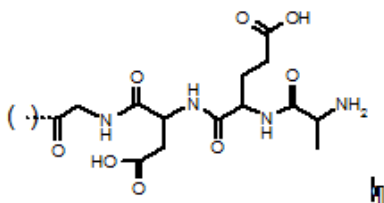
сотрудников под руководством ведущего научного сотрудника к.х.н. Краснова К.А. Препараты фармакологической коррекции вводились в течение 2 недель после отравления.

Интактным животным в те же сроки интраназально вводили физиологический раствор в дозе 100 мкл/кг массы. Эти животные содержались также в условиях разного режима освещения.

В течение проведения данного эксперимента в конце первого и третьего месяцев после отравления тиопенталом натрия в условиях светового десинхроноза у отравленных и интактных животных был осуществлен забор биологического материала для определения показателей антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в цельной крови, в тканях головного мозга. В плазме крови определялись нейротрофические факторы. Показатели энергетического обмена определялись в плазме крови и в тканях головного мозга. Концентрация катехоламинов определялась в плазме крови. Поведенческие и когнитивные функции определялись в тестах «Открытое поле» и тест «Условная реакция пассивного избегания».

2.3 Препараты фармакологической коррекции

2.3.1 Сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота) - KSE-02



Сукциноильное производное мелатонина – соединение мелатонина с янтарной кислотой. Янтарная кислота в лекарственных препаратах используется в качестве активного вещества как метаболическое средство, улучшающее метаболизм и энергообеспечение тканей, уменьшающее гипоксию тканей. Уникальность препарата KSE-02 подтверждается защитой оригинальной молекулы патентом РФ на изобретение № 2655813 [128]. KSE-02 отличается от препаратов, содержащих синтетический мелатонин, как структурной формулой, так и более высокой эффективностью, большей биодоступностью, а также рядом фармакодинамических и фармакокинетических параметров. Получены предварительные данные, указывающие на другой механизм действия KSE-02, по сравнению с препаратами синтетического мелатонина.

KSE-02 обладает оригинальными фармакологическими свойствами, в частности, проявляет не только профилактическое, но и лечебное действие при джетлаге, улучшает энергетический обмен, нормализует гормональный фон, что не характерно для синтетических аналогов мелатонина. KSE-02 демонстрирует более выраженный эффект на моделях светового десинхроноза, при этом различие эффективности по сравнению с препаратами синтетического мелатонина более выражено именно при коррекции, а не профилактике десинхроноза. Таким образом, KSE-02 обладает всеми перечисленными свойствами и высокой биодоступностью.

2.3.2 Мелатонин

Мелатонин и его аналоги оказывают антиоксидантное, антиканцерогенное, антиатеросклеротическое и нейропротекторное действие. Искусственно полученный мелатонин достаточно подробно исследован в качестве фармакологического агента. У людей введение мелатонина в течение 1 месяца до 6 г ежедневно не вызывало побочных эффектов, кроме спазмов у отдельных испытуемых [84; 114]. Это малотоксичное соединение с LD50 выше 800 мг/кг для лабораторных животных. Парентерально введенный мелатонин легко проникает через гематоэнцефалический барьер, быстро накапливается в ликворе и мозговой ткани. Принятые терапевтические дозы мелатонина в составе лекарственных препаратов и БАД составляют 3-6 мг. Большинство клинических исследований в мире проведено с использованием этих дозировок. Он увеличивает концентрацию γ -аминомасляной кислоты (ГАМК) в ЦНС и серотонина в среднем мозге и гипоталамусе, изменяет активность пиридоксалькиназы, участвующей в синтезе ГАМК, дофамина и серотонина. Адаптирует организм к быстрой смене часовых поясов, снижает стрессовые реакции, регулирует нейроэндокринные функции, является нейропротектором. Имеет иммуностимулирующие и антиоксидантные свойства, предупреждает развитие атеросклероза и новообразований. Однако сам мелатонин при пероральном приеме обладает весьма низкой биодоступностью [182].

Мелатонин является одним из самых мощных эндогенных антиоксидантов. Его антиоксидантная активность определена во всех клеточных структурах, включая ядро клетки. Мелатонин проявляет антиоксидантные свойства в отношении свободнорадикального поражения ДНК, белков и липидов [441], способен связывать свободные радикалы (гидроксил, свободный кислород, пероксинитрит и т.д.) и стимулировать активность ферментов антиоксидантной системы (СОД, ГП, ГР, Г-6-ФДГ), таким образом, обеспечивает защиту клеток мозга [114; 533].

2.3.3 Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*)

В работе был использован пептидный экстракт гипофиза Северного оленя с применением технологии по патенту RU 2696773 [129]. Пептидный экстракт представляет собой набор водорастворимых олиго-, полипептидных фракций вплоть до их мономерных субъединиц и обладают олиго-полипептид класс-эффектом. В данной работе использовался пептидный экстракт гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*) - вытяжка из природного объекта, характеризующаяся уникальным набором свойств. Северный олень адаптирован к жизни в условиях низких температур, интенсивных и длительных физических нагрузок, ограниченности пищевого ресурса, геомагнитным всплескам, циркадианным перестройкам в условиях смены полярного дня и полярной ночи. В короткое арктическое лето природа создает механизмы, способствующие максимальному синтезу и высокому обмену веществ для поддержания его жизнедеятельности в зимний период.

Исследуемый в работе пептидный комплекс из гипофиза Северного оленя представляет собой стерильный лиофилизированный мелкодисперсный порошок от светло-серого до белого цвета, расфасованный во флаконы по 3 мг субстанции, серийно производящийся ЗАО «Фермент» [154].

2.4 Методики изучения особенностей состава пептидного комплекса гипофиза

2.4.1 Определение молекулярно-массового распределения белков и пептидов

Анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity, оснащенный времяпролетным масс-спектрометрическим детектором Agilent 6540 LC/ Q-TOF. Хроматографическая колонка AdvanceBio Peptide Plus, (2,1*150 мм, 2.7 мкм). Элюирование осуществляли смесью, состоящей из компонентов А и В, в градиентном режиме: до 0,50 мин – 5%B, с 0,5 по 15,00 мин – до 35%B, с 15,00 по 17 мин – до 95% и удерживается в течение 13,00 мин, с 30,00 мин – возвращается в исходные условия. Компонент А представлял собой 0,1% раствор муравьиной кислоты в деионизированной воде, компонент В – 0,1% раствор муравьиной кислоты в ацетонитриле. Скорость потока – 400 мкл/мин, время анализа 33 мин. Идентификацию пептидов проводили при помощи программного обеспечения Spectrum Mill компании Agilent Technologies.

Общий вид хроматограммы субстанции пептидного комплекса гипофиза Северного оленя в полном ионном токе представлен на Рисунке 4.

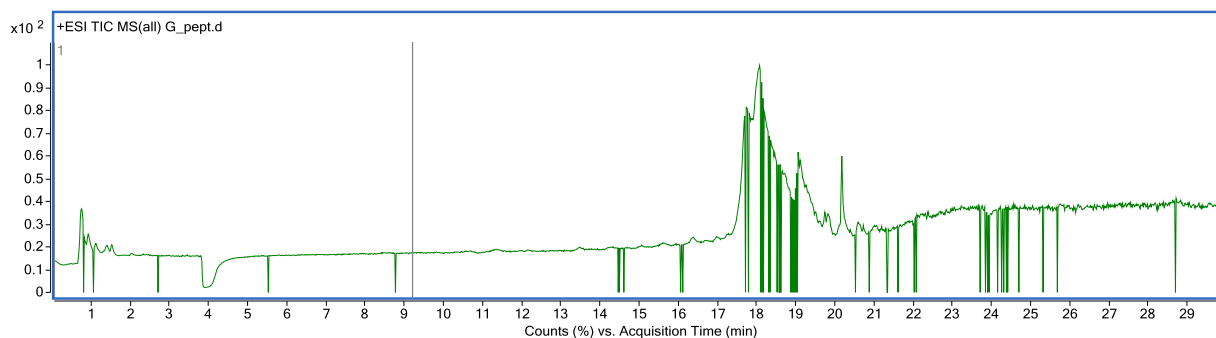


Рисунок 4 – Хроматограмма пептидного комплекса гипофиза Северного оленя

Было найдено более 1000 пиков. Основная масса пиков находится в области до 500 Да, что говорит о наличии в составе фармацевтической субстанции пептидов небольшой длины с длиной аминокислотных последовательностей 8-15 единиц. Кроме того, выявлено два дополнительных пика, соответствующих не разрушенным в процессе экстрагирования двух белков массы 60,3 и 48,3 кДа.

Установлено следующее молекулярно-массовое соотношение, характеризующее полипептидный комплекс гипофиза (Таблица 1).

Таблица 1. Молекулярно-массовое соотношение полипептидного комплекса гипофиза Северного оленя

Диапазон молекулярной массы пептидов	Доля диапазона, %
- от 100 до 1000 Да	11
- от 1000 до 2000 Да	28
- от 2000 до 3000 Да	0
- от 3000 до 5000 Да	61

Подобное молекулярно-массовое соотношение близко к характеристикам нейротропных пептидов из различных отделов мозга молотых телят, обладающих антигипоксической активностью [133]. Следовательно, и для пептидного комплекса гипофиза Северного оленя можно ожидать наличие как антигипоксической активности, так и антиоксидантного действия, так как снижение гипоксического нарушения функции митохондрий всегда сопровождается и меньшей степенью генерации активных форм кислорода.

На следующем этапе анализа состава КПП выполнена идентификация входящих в него пептидов и их фрагментов (Таблица 2).

Таблица 2 – Результаты идентификации пептидов в активной фармацевтической субстанции из гипофиза Северного оленя

Название пептида (фрагмента)	Биологическая функция	Содержание (%)
Специфические гипофизарные		
Про-опиомеланокортин (фрагменты)	предшественник гормонов аденогипофиза. При процессинге расщепляется с образованием АКТГ, бета-эндорфина, бета-липотропина	20,9
Липотропин бета	регулятор процессинга про-опиомеланокортина, образования эндорфинов. Стимуляция липолиза в жировой ткани, торможение липогенеза	17,7
Соматолактин 1, 2	пептид гипофиза с пролактиновой и соматотропиновой активностью. Стимулирует образование меланоцит-стимулирующего гормона.	11,2
Эстрогеновый рецептор-1 (фрагмент)	обеспечивает отрицательную обратную связь на выработку ФСГ и ЛГ	9,6
Ингибин (фрагменты)	пептид, продуцируемый фолликулами яичника и спермиогенными клетками Сертоли, регулирует выработку ФСГ по механизму отрицательной обратной связи	6,7
Кислый хрящевой протеин-1	входит в состав капсулы гипофиза	5,6
Инверсин	пептид, участвующий в поддержании структуры железистых клеток гипофиза	1,8
Гипофиз-специфический транскрипционный фактор - 1	активизирует выработку гипофизарных гормонов	1,8
Тиреоглобулин	транспортер гормонов щитовидной железы	0,2
Специфические нейрональные пептиды		
Рибосомальный протеин S11	специфичен для нервной ткани, маркер протеинсинтетической активности	16,4
Ламин В рецептор (фрагмент)	регулирование функции ядерной мембраны при клеточном делении, локализация и активность ядерных пор	6,0
Митохондриальный рибосомальный протеин 63	маркер функциональной активности митохондрий, их неогенеза	5,8
Глутаматный рецептор метаботропный – 7 (фрагмент)	пресинаптическая регуляция (снижение) активности НМДА-рецептора и риска эксайтотоксичности	3,5
Синаптоагмин-1	участвует в высвобождении медиаторов из пресинаптических терминалей	3,0
Субъединица альфа Gs белка GPCR-рецепторов	стимуляция нейрональной аденилатциклазы и активация функции нейрона	1,2

Продолжение Таблицы 2

Название пептида (фрагмента)	Биологическая функция	Содержание (%)
Транскрипционные факторы		
HESX homeobox	фактор развития тканей из переднего висцерального эндодермального эмбрионального листка (в т.ч. головного мозга)	15.0
Spalt-LTF (фрагменты)	сигнал-зависимая геномная регуляция	6.3
LytR- регулятор транскрипции	сигнал-зависимая геномная регуляция	3,9
Протеин, инициирующий репликацию хромосом	регуляция клеточного деления	1,5
Другие пептиды		
Переносчики и их фрагменты	глицин-бетаиновый, MFS, ABC, глюкозы, глюцитол-сорбитоловый, пермеаза 11C	
Ферменты и их фрагменты	металлопротеаза RIP, глюкозамин-фруктозо-6-фосфат-аминотрансфераза, Zn-алкогольдегидрогеназа, лактатдегидрогеназа, поли(3-гидроксибутират)деполимераза, аминопептидаза P, рибонуклеаза J, гуанилаткиназа, транспосаза 1S3, гуанилаткиназа, цитозин-C5-метилтрансфераза, тирозинпротеинкиназа, сенсор гистидинпротеинкиназы, серин-треонинпротеинкиназа, гипоксантин-фосфорибозилтрансфераза	
Белки теплового шока	HSP90	
Иммуноглобулины	белок семейства иммуноглобулин-1	

Анализ Таблицы 2 позволяет предположить, что в результате применения полипептидного комплекса гипофиза возможно выявление следующих эффектов, связанных с наличием соответствующих пептидов:

- противострессового (про-опиомеланокортин, бета-липотропин)
- антиклимактерического и снижение выраженности синдрома предменструального напряжения (соматолактин, ингибин, эстрогеновый рецептор-1)
- антиастенического (про-опиомеланокортин, тиреоглобулин, липотропин, синаптотагмин, Gs-рецепторный белок, митохондриальный рибосомальный белок)
- неспецифического повышения резистентности организма, умеренная антигипоксическая и антиоксидантная активность (соматолактин, белок теплового шока, иммуноглобулиновый пептид, глутаматного метаботропного рецептора 7 белок, лактатдегидрогеназа)
- повышения устойчивости к алкоголю (алкогольдегидрогеназа, синаптотагмин, Gs-рецепторный белок).

2.5 Биохимические методы исследования в крови и в тканях экспериментальных животных

Для получения цельной крови производили эвтаназию и декапитацию лабораторных животных и собирали кровь. Кровь забиралась в вакутейнер с гепарином натрия. Для определения активности ферментов АОС цельную кровь центрифугировали 10 мин при 3500 об/мин в центрифуге К-326 (Германия), удаляли плазму крови, а затем 3 раза отмывали эритроциты холодным раствором NaCl (0,9%), затем центрифугировали при тех же условиях. Гемолизировали эритроциты 5 mM трис-HCl (pH 7,6) буфером в соотношении 1:9. Полученный биологический материал использовался для биохимического анализа. Ткань головного мозга после декапитации лабораторных животных отбирали, гомогенизировали для определения активности ферментов ГП, ГР, Г-6-ФДГ. С этой целью были использованы наборы фирмы «Randox», Великобритания, а также контрольные материалы этой же фирмы.

Концентрацию ВГ в гемолизате эритроцитов и цитозольной фракции тканей мозга определяли с использованием 5,5'-ди-тио-бис(-2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) по методике G.L. Ellman (1959) [238] в модификации с осаждением белка раствором сульфосалициловой кислоты. Принцип метода основан на взаимодействии ДТНБ (реактива Элмана) с кислоторастворимыми тиоловыми группами окрашенного продукта – тио-2-нитробензойной кислоты, имеющего максимум поглощения на длине волны 412 нм. Рассчитывали концентрацию ВГ и выражали в мкмоль/г Hb (или г белка) [33].

Головной мозг перед исследованием взвешивали, измельчали и гомогенизировали в микроизмельчителе тканей POLYTRON PT-1200E (Швейцария), далее центрифугировали при 3000 об/мин с охлажденным до 0 °С, 0,1 М калий фосфатный буфер с pH 7,4 в соотношении «мозг : буфер – 1:9». Из полученного гомогената мозга отбирали пробы для определения концентрации ВГ, МДА и ДК. Для определения активности глутатион-S-трансферазы, концентрации общего белка, активности СОД, ГП, ГР, Г-6-ФДГ полученный гомогенат центрифугировали при 20000 об/мин в течение 1 часа на ультрацентрифуге L8-M («Beckman», США) и использовали полученный супернатант для определения активности исследуемых ферментов. Концентрацию исследуемых субстратов и активность ферментов в гомогенате тканей головного мозга пересчитывали на 1 г белка.

Концентрацию МДА в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определяли по методу M. Uchiyama [518]. Взаимодействие МДА и ТБК происходит при кислой pH, образуется окрашенный триметиновый комплекс, имеющий максимум поглощения при длине волны 532 нм. Концентрацию ТБК – продуктов рассчитывалась по разнице оптических

плотностей E 535-580 с учетом разведения и коэффициента пересчета ($K=1,88 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) и выражалась в нмоль/г Hb (или г белка).

Определение концентрации ДК в гомогенате тканей головного мозга и в гемолизате эритроцитов осуществлялась по методике И.Д. Стальной (1977) [137]. Метод основан на экстракции ДК из исследуемого материала и измерении их концентрации по спектру поглощения с максимумом при длине волны 233 нм. Концентрацию ДК рассчитывалась с учетом разведения с использованием молярного коэффициента светопоглощения на указанной длине волны ($K=2,2 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) и выражалась в нмоль/г Hb (или г белка).

Определение активности глутатион-S-трансферазы в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов проводили по методу W.H. Habig и W.B. Jakoby [280]. Метод основан на взаимодействии ВГ с 1-хлор-2,4-динитробензолом в присутствии глутатион трансферазы и образуется продукт с максимумом поглощения при длине волны 340 нм. Расчет производился с учетом коэффициента молярной экстинкции образующегося продукта $9,6 \times 10^3 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, степени разведения, времени инкубации. Результаты выражают в мкмоль/минута⁻¹ × г Hb (или г белка).

Концентрацию Hb - гемоглобина, активность ферментов СОД, ГП, ГР, Г-6-ФДГ в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определялся на биохимическом анализаторе «А-25» наборами фирмы RanDox (Великобритания). Концентрация общего белка определялась наборами фирмы BioSystems (Испания).

Активность АСТ, АЛТ, ЛДГ, КК, ЩФ, концентрация общего белка, альбумина, мочевины, холестерина, глюкозы в плазме крови и в гомогенате тканей головного мозга определяли на биохимическом анализаторе «А-25» наборы фирмы BioSystems (Испания) [33].

Биохимические маркеры поражения нервной ткани в плазме крови крыс определялись методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью наборов ELISA Kit фирмы Cloud-Clone Corp. (США) Enolase, Neuron Specific – нейронспецифическая енолаза (NSE), Myelin Basic Protein – основной белок миелина (MBP), S100 Calcium Binding Protein – кальций-связывающий белок (S100), Brain Derived Neurotrophic Factor – нейротрофический фактор головного мозга (BDNF), Pigment Epithelium Derived Factor – пигментный фактор эпителиального происхождения (PEDF), Glial Fibrillary Acidic Protein – глиальный фибриллярный кислый протеин (GFAP) и мелатонин (MT).

2.6 Определение концентрации катехоламинов в плазме крови методом ВЭЖХ

Для определения катехоламинов в плазме крови осуществлялся забор крови в гепаринизированные вакутейнеры для биохимических исследований. Забор крови производился в утренние часы, с 9 до 11 утра. Пробы центрифугировали в течение 10 минут при 4°C и 1490g.

Для исследований использовалась плазма крови без признаков гемолиза. В плазме крови экспериментальных животных определяли концентрацию дофамина, адреналина и норадреналина (в нг/л) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на хроматографе «Shimadzu» с электрохимической ячейкой (Япония) (ВЭЖХ-колонка лот 5100 для анализа катехоламинов в плазме крови компании ChromSystems, Европейский Союз). Расчет искомой концентрации в исследуемой пробе производится автоматически компьютерной программой, поставленной производителем. Результаты измерений катехоламинов в плазме крови представлены в единицах: нг/л. Для пробоподготовки использовались готовые наборы и инструкции к ним компании «ChromSystems» (хроматографические колонки и реагенты для анализа катехоламинов в плазме крови методом ВЭЖХ лот 5000 компании ChromSystems. Методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием была обеспечена достаточная чувствительность для определения концентрации катехоламинов в плазме крови экспериментальных животных.

2.7 Определение активности Na^+, K^+ -АТФазы микросом мозга экспериментальных животных

Ткань головного мозга животных, полученная в день забоя, гомогенизировали в дистиллированной воде из расчета 1 мл H_2O на 1 г мозга. Гомогенат центрифугировали 15 мин при 12 000g, супернатант центрифугировали 60 мин при 30 000g. Осадок микросом суспендировали в 0,05 М трис- HCl (pH=7,55) и хранили в эппендорфах при - 20°C.

Принцип метода: активность Na^+, K^+ -активируемой, Mg^{+2} -зависимой АТФазы определяют по разности активностей в отсутствии оуабаина и при его добавлении. В результате гидролиза АТФ под действием АТФ-азы накапливается неорганический фосфат, который молибденовокислым аммонием переводится в комплексное соединение, восстанавливаемое аскорбиновой кислотой до молибденовой сини. Интенсивность окраски пропорциональна содержанию фосфата неорганического [64]. Содержание белка определяли на биохимическом анализаторе «А-25» наборы фирмы BioSystems (Испания). Ферментативная активность Na^+, K^+ - АТФазы микросом мозга выражалась в мкм Фн/мг белка/час.

2.8 Методы изучения интегральных показателей поведенческих и когнитивных функций экспериментальных животных

Для исследования функций высшей нервной деятельности использовались тесты «Открытое поле» и «Условная реакция пассивного избегания».

Установка «Открытое поле» – освещенная квадратная камеры для животных, с прозрачными пластмассовыми боковыми стенками, дном и крышкой (50×50×50). Характер и количество движений отмечалось регистратором (ИК-лучи), а полученные данные обрабатывались с помощью программного обеспечения к данной установке. Крысу выпускали в правый угол поля и в течение 3-х минут регистрировали горизонтальную и вертикальную активность, груминг, скорость перемещения животных и расстояние, общую двигательную активность, количество движений в центре площадки и на периферии.

Обучение животных проводится в двухкамерной установке PACS-30 (Columbus Instruments, США) состоящей из затемненного и освещённого отсеков, соединенных дверцей. Используется ток силой 1 мА, который предъявляется в течение 3 с, однократно.

Эксперимент состоит из 3-х стадий:

1) Исследование «норкового рефлекса» – крысу помещают в светлый отсек (хвостом к дверце). Время перехода животного из светлого в тёмный отсек регистрируется как латентный период первого захода.

2) Обучение – при переходе в тёмный отсек животное там получает болевое электрокожное раздражение через электродный пол.

3) Воспроизведение – через 2 часа и 24 часа после обучения крысу помещают в светлый отсек. В течение 3-х минут регистрируют следующие параметры: количество обученных крыс, которые не зашли в тёмную камеру в процентах от общего количества животных, и латентный период первого захода через 12 и 24 часа после обучения [104,113].

2.9 Статистическая обработка полученных результатов

Статистическая обработка данных выполнена с использованием программного обеспечения AtteStat, версия 13. В качестве непараметрического критерия использован критерий Манна-Уитни. Вывод о статистической достоверности различий между группами принимали при $p \leq 0,05$ и ниже.

Для статистической оценки взаимодействия двух факторов использовался двухфакторный дисперсионный анализ. При данном виде анализа каждый моделируемый патологический процесс рассматривается как независимый контролируемый фактор (есть

отравление «усиление окислительного давления» или нет, изменяется режим освещения или нет). Метод двухфакторного дисперсионного анализа позволяет оценить влияние каждого из контролируемых факторов (А и В), их взаимодействия, и случайные факторы на показатели выраженности патологических процессов. Мерой такого влияния рассматривается фактор детерминации (ФД) модели, в которой общая доля дисперсии анализируемого показателя может быть связана с контролируемым (и их взаимодействием) факторами. Взаимодействие двух контролируемых факторов при патогенетической связности должно быть значимым и статистически достоверным. Результат такого взаимодействия может проявляться как дополняющий эффект, суммация, потенцирование, антагонизм.

Для анализа взаимодействия на основе среднегрупповых данных рассчитываются значения эффектов воздействия факторов А и В, и эффект совместного их взаимодействия (А*В) [126]. Индекс аддитивности (ИА) определяется как отношение эффекта суммарного воздействия А*В к сумме эффектов А и В. При аддитивном взаимодействии однонаправленных эффектов значения ИА должны находиться в диапазоне от 0,9 до 1,1. Если значения превышают 1,1, то выявленное взаимодействие будет носить супрааддитивный, потенцирующий характер, что происходит в случае коморбидности. При разнонаправленности эффектов обычно результатом взаимодействия является полный или частичный антагонизм, или встречается усиление действия одного из факторов, при этом действие второго фактора игнорируется [126].

ГЛАВА 3 МОДЕЛИРОВАНИЕ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА

Для моделирования светового десинхроноза опыт был проведен на белых крысах-самцах породы Wistar в возрасте 2 месяцев, массой 160-200гр. Животные были разделены на три группы по 144 крысы в каждой в зависимости от светового режима. Животные были помещены на 1 месяц в условия с разным режимом освещения, а именно: режим свет-темнота (12:12), режим постоянного освещения (светодиодное освещение, 500лк) и режим постоянной темноты. С целью анализа ритмичности исследуемых биохимических показателей кровь у крыс контрольной и экспериментальных групп собиралась через 30 дней эксперимента, на 31 день, каждые 3 часа, в течение трех дней, начиная с 9 часов утра по местному времени. В каждой точке забора крови были использованы новые группы крыс по 6 крыс в каждой. Всего в эксперименте было использовано 432 крысы. В сыворотке крови определялись биохимические показатели: общий белок, альбумин, глюкоза, холестерин, мочевины, креатинин, общий билирубин, активность аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы (ЩФ) на биохимическом анализаторе А-25 (BioSystems, Испания).

Для анализа ритмических процессов, происходящих в организме, используется метод косинор-анализа, предложенный в 1965 г. Ф. Халбергом [281] и подробно описанный в работах В.П. Карп, Г.С. Катинас [76]. Циркадианные ритмы как любой циклический процесс можно представить в виде бесконечной суммы периодических слагаемых (ряд Фурье). Полученные экспериментальные данные Ф. Халберг предложил аппроксимировать методом наименьших квадратов первым членом этого ряда – синусоидой (гармоникой). Любой процесс при помощи гармонического анализа даже при достаточно общих предположениях можно представить однозначно. То есть практически любая форма волны исследуемого биоритма может быть описана гармоникой, которая представляет собой синусоиды с целочисленными периодами по отношению к периоду объекта исследования (волны). Число гармоник не ограничено и подсчитывается на основании входной информации [85].

Первым этапом построения модели биоритмов методом косинор-анализа является аппроксимация индивидуальных суточных кривых гармониками с заданным периодом. Каждый массив наблюдений за один день называется хронограммой, расчетные кривые – синусоидами. Массив хронограмм является входной информацией для анализа ритмов. Каждая хронограмма строится на основе наибольшего числа измерений, но не менее трех, и чем больше измерений, тем точнее окончательный результат. Измерения могут быть в разные часы суток, с неодинаковым периодом. Хронограммы для анализа ритма исследуемого показателя могут быть получены в разное время суток [85].

Основные параметры ритмов являются выходной информацией косинор-анализа: мезор, т.е. величина среднего уровня синусоиды (h), амплитуда синусоиды (A) и акрофаза (Φ), то есть время наступления максимума функции. Эти данные рассчитываются как для отдельных синусоид, так и для средней синусоиды. Ряд показателей рассчитывается дополнительно: x и y (центр эллипса), r (коэффициент корреляции между координатами точки в прямоугольной системе координат), a (большая полуось эллипса), b (малая полуось эллипса), S_x и S_y (ошибки x и y), $Teta$ (угол наклона большой оси эллипса к оси абсцисс), $Delta$ (среднеквадратическое отклонение синусоиды от соответствующей хронограммы) [85].

Усреднение индивидуальных данных, определение математического ожидаемого и доверительных интервалов являются вторым этапом Косинор-анализа. Для определения достоверности существования ритмов на принятом доверительном уровне (например, на уровне 0,95) необходимо построение эллипса ошибок. Синусоида выглядит на плоскости точкой, а ее полярными координатами являются амплитуда и акрофаза. В декартовых координатах все полученные таким образом точки рассматриваются как реализация двумерной случайной величины с гипотетически нормальным законом распределения. Затем строится эллипс рассеивания ошибок генерального среднего [85].

Дальнейшее проведение косинор-анализа заключается в выяснении достоверности существования полученных гармоник (ритмов). Для этого строится доверительный интервал или эллипс рассеивания (эллипс ошибок) [85].

Графическое представление данных косинор-анализа с построением эллипсов рассеивания (доверительных интервалов) можно осуществить с помощью компьютерной программы «Cosinor Ellipse 2006» (свидетельство об официальной регистрации № 2006611345 и приложенная к ней инструкция) [85]. По параметрам эллипса программа рассчитывает и выдает доверительные интервалы для мезора (h), амплитуды (A) и акрофазы (Φ).

Анализ достоверности ритмов предполагает, что усредненная аппроксимирующая хронограмма-синусоида (отмеченная на изображении крестиком) находится внутри эллипса, а сам эллипс не должен проходить через центр координат (т.к. в данном случае акрофаза будет приходиться на весь 24 ч период). Соблюдение данных условий является необходимым для достоверности рассчитанного ритма, в противном случае данный ритм не существует.

На основе полученных данных для животных из группы с естественным освещением методом косинор-анализа были построены эллипсы рассеивания для 24 часовой гармоник для 10 биохимических показателей. Эллипсы по показателям белкового и углеводного обмена 24 часовой гармоник соблюдают оба условия, например, доверительный интервал акрофазы показателя «общий белок сыворотки крови» находится в интервале с 10,29 часов до 18,48 часов, таким образом, данный суточный ритм является достоверным (Рисунок 5).

На основе полученных данных для животных из групп с измененным световым режимом методом косинор-анализа также были построены эллипсы рассеивания для 24 часовой гармоники по тем же 10 биохимическим показателям. Эллипсы по показателям белкового и углеводного обмена 24 часовой гармоники соблюдают оба условия, например, доверительный интервал акрофазы показателя «общий белок сыворотки крови» находится в интервале с 3,94 часов до 11,42 часов. Таким образом, данный суточный ритм смещен относительно акрофазы данного показателя у животных из группы с естественным освещением и является достоверным (Рисунок 6).

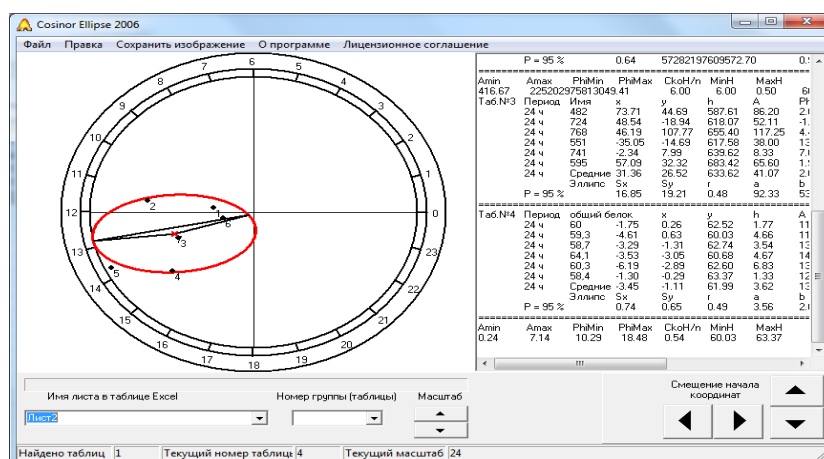


Рисунок 5 – Окно программы Cosinor Ellipse 2006 с результатами анализа 24 часовой гармоники (на примере показателя «общий белок сыворотки крови» у животных из группы с естественным освещением)

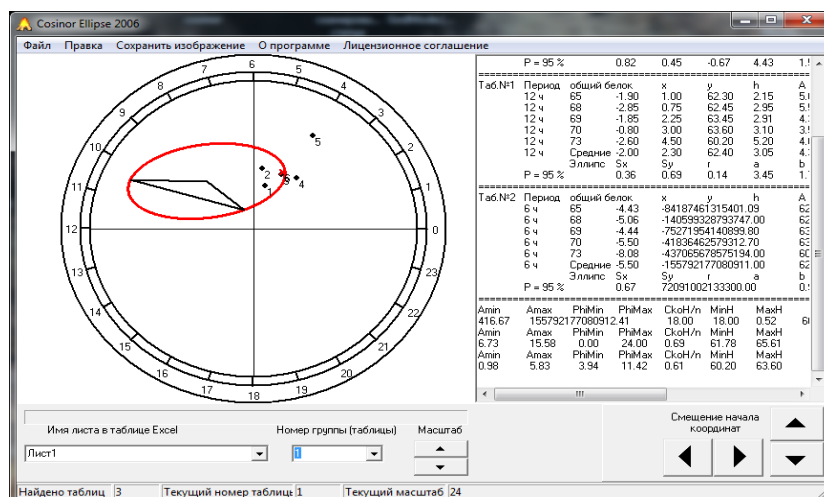


Рисунок 6 – Окно программы Cosinor Ellipse 2006 с результатами анализа 24 часовой гармоники (на примере показателя «общий белок сыворотки крови» у животных из групп с измененным режимом освещения)

3.1 Ритмическая организация биохимических показателей сыворотки крыс при световом десинхронозе

Маркерами светового десинхроноза в используемой модели были выбраны биохимические показатели сыворотки крови экспериментальных животных. С целью исследования циркадианных параметров методом косинор-анализа была получена выходная информация для следующих показателей: общий белок, альбумин, а также ферменты: аланинаминотрансфераза (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ), глюкоза, общий холестерин, мочевины, креатинин, общий билирубин. Результаты исследований ритмической организации биохимических показателей в сыворотке крови при обычном освещении представлены в Таблице 3.

Таблица 3 – Ритмическая организация биохимических показателей сыворотки крови крыс при обычном освещении

Показатели	Период, ч	Мезор	Амплитуда	Акрофаза, ч.мин
Общий белок, г/л	24	61,55±0,26	3,83±2,71	20,46
Альбумин, г/л	24	31,85±0,65	3,03±2,29	3,37
АЛТ, Ед/л	24	40,03±0,57	5,04±4,47	6,10
АСТ, Ед/л	24	165,57±5,75	32,29±21,35	0,00÷24,00
ЩФ, Ед/л	24	208,97±11,47	42,95±25,28	0,00÷24,00
Глюкоза, ммоль/л	24	6,17±7,38	2,13±1,27	1,35
Холестерин, ммоль/л	24	1,86±0,09	0,38±0,25	5,50
Мочевина, ммоль/л	24	3,42±0,05	0,87±0,64	17,57
Креатинин, мкмоль/л	24	32,22±1,4	7,78±7,90	0,00÷24,00
Общий билирубин, мкмоль/л	24	2,60±0,06	4,00±1,46	7,39
Примечание – мезор и амплитуда представлены в тех единицах измерения, которые указаны для каждого показателя.				

Согласно современной мультиосцилляторной модели организации биоритмов многоклеточного организма один из основных локальных пейсмекеров находится в печени. Большая часть белковых фракций сыворотки крови синтезируется в печени, поэтому показатели концентрации общего белка и альбумина в сыворотке крови зависят от скоординированного действия различных факторов как экзогенных (поступление незаменимых аминокислот), так и эндогенных - энергообеспеченность клетки, регуляторные факторы. При обычном светодиодном освещении через 1 месяц эксперимента выявлен достоверный 24-часовой ритм показателей общего белка и альбумина в сыворотке крови. Акрофаза мезора общего белка приходится на вечерние часы, акрофаза альбумина – на утренние часы.

Концентрация глюкозы в крови является результатом соотношения скоростей образования глюкозы из гликогена или из аминокислот, всасывания ее из желудочно-кишечного тракта и утилизации тканями. Глюкоза является основным энергетическим субстратом для метаболизма клеток ЦНС. Уровень глюкозы в крови регулируется скоростью распада гликогена в печени, как на клеточном уровне, так и на уровне ЦНС. Один из основных способов запасаения избытка углеводов – это превращение их в липиды, например, триглицериды, холестерин. При обычном освещении для показателей глюкозы и холестерина также выявлен достоверный 24-часовой ритм. Акрофазы мезорных значений отмечаются в утренние часы.

Несмотря на отсутствие органной специфичности, определение активности АЛТ и АСТ при различных заболеваниях печени и сердца, скелетной мускулатуры имеет большую диагностическую ценность. Данные ферменты являются внутриклеточными и выполняют функции «регуляторов на перекрестке различных метаболических путей». При обычном освещении выявлен 24-часовой достоверный ритм для показателя АЛТ в отличие от показателя АСТ.

Щелочная фосфатаза содержится практически во всех тканях млекопитающих. В сыворотке крови, в основном, обнаруживается активность печеночной изоформы данного фермента. Данный показатель не проявил циркадианную ритмику при обычном освещении. Концентрация мочевины в сыворотке крови характеризует детоксикационную функцию печени и выделительную функцию почек. В проведенном исследовании данный показатель обнаруживает циркадианную ритмику. Акрофаза мезора отмечается в вечернее время. Суточное выделение креатинина в организме млекопитающих зависит от его мышечной массы и фильтрующей функции почек. Ритмическая организация данного показателя в данном исследовании не выявила достоверного 24-часового ритма.

Общий билирубин сыворотки крови представлен двумя фракциями: непрямой билирубин и прямой билирубин. Преобразования данного пигмента также связаны с детоксикационной функцией печени. Методом косинор-анализа выявлен достоверный циркадианный ритм общего билирубина сыворотки крови с акрофазой мезорного значения в утренние часы.

Через 1 месяц изменения светового режима на постоянное освещение (Таблица 4) биоритмы некоторых показателей изменились по сравнению с группой обычное освещение. Так, суточный ритм показателя общий белок стал недостоверным. Также на 89 % увеличилась амплитуда данного показателя. Акрофаза мезора альбумина в группе с постоянным освещением сместилась с 3,37 на 9,10, но осталась в первой половине дня. Амплитуда данного показателя также увеличилась на 40 %. Также наблюдается увеличение амплитуды следующих

показателей: АСТ, ЩФ, мочевины, снижение амплитуды выявлено у показателей: АЛТ, глюкоза, холестерин, креатинин, общий билирубин. Следует отметить сдвиг акрофаз мезоров глюкозы и холестерина на вечернее время. При постоянном освещении биоритмы секреции щелочной фосфатазы соответствуют акрофазе мезора в вечернее время, в отличие от обычного освещения, где акрофаза показателя не была выявлена. Для показателя общий билирубин сыворотки крови при постоянном освещении акрофаза мезора не выявлена.

Таблица 4 – Ритмическая организация биохимических показателей сыворотки крови крыс при постоянном освещении

Показатели	Период, ч	Мезор	Амплитуда	Акрофаза, ч. мин
Общий белок, г/л	24	67,77±1,53	7,24±6,07	0,00÷24,00
Альбумин, г/л	24	41,15±2,06	4,24±1,5	9,10
АЛТ, Ед/л	24	32,51±2,06	3,12±2,5	5,20
АСТ, Ед/л	24	190,38±40,5	43,13±27,34	0,00÷24,00
ЩФ, Ед/л	24	201,09±5,64	60,39±32,02	19,02
Глюкоза, ммоль/л	24	6,28±0,09	0,90±0,46	19,37
Холестерин, ммоль/л	24	1,34±0,11	0,20±0,04	17,55
Мочевина, ммоль/л	24	5,03±0,11	2,05±0,55	19,13
Креатинин, мкмоль/л	24	38,03±3,10	4,98±2,49	0,00÷24,00
Общий билирубин, мкмоль/л	24	2,00±0,30	0,41±0,05	0,00÷24,00
Примечание – мезор и амплитуда представлены в тех единицах измерения, которые указаны для каждого показателя.				

Разнонаправленное изменение амплитуды при постоянном освещении свидетельствует о рассогласовании биоритмов, что является основой развития патологического состояния. Смещение акрофаз мезоров некоторых показателей и потеря циркадианной структуры ритма под воздействием внешнего фактора (изменение светового режима) приводит к десинхронизации параметров системы и нарушению функциональной взаимосвязи между показателями. Но при этом сохраняется 24-часовой ритм у всех показателей.

В группе постоянная темнота через 1 месяц изменения светового режима ритмическая организация исследуемых параметров изменилась значительно по сравнению с группой обычное освещение и группой постоянное освещение. Так, зарегистрирован ультрадианный 12-ти часовой достоверный ритм общего белка сыворотки крови с акрофазой мезорного значения общего белка в 3,20 (Таблица 5). Увеличилась амплитуда мезоров у 7 показателей по сравнению с группой обычное освещение. При этом акрофазы мезоров большинства показателей не выявлены.

Таблица 5 – Ритмическая организация биохимических показателей сыворотки крови крыс при постоянной темноте

Показатели	Период, ч	Мезор	Амплитуда	Акрофаза, ч. мин
Общий белок, г/л	24	54,27±0,59	9,16±2,43	0,00÷24,00
	12	40,05±0,41	2,41±1,10	3,20
Альбумин, г/л	24	57,88±0,53	6,24±4,00	0,00÷24,00
АЛТ, Ед/л	24	57,75±2,03	13,42±10,39	0,00÷24,00
АСТ, Ед/л	24	200,36±12,08	27,18±15,09	0,00÷24,00
ЩФ, Ед/л	24	186,12±10,38	74,54±12,20	0,00÷24,00
Глюкоза, ммоль/л	24	7,15±0,22	1,04±0,26	0,00÷24,00
Холестерин, ммоль/л	24	1,80±0,11	0,80±0,02	0,00÷24,00
Мочевина, ммоль/л	24	5,69±0,23	0,76±0,70	7,24
Креатинин, мкмоль/л	24	57,09±2,06	11,00±2,01	0,00÷24,00
Общий билирубин, мкмоль/л	24	2,13±0,24	0,75±0,05	0,00÷24,00
Примечание – мезор и амплитуда представлены в тех единицах измерения, которые указаны для каждого показателя.				

Таким образом, изменение светового режима в течение одного месяца привело к снижению числа достоверных ритмов, в группе постоянная темнота более, чем на 50% по сравнению с группой обычное освещение. Показатели мезора при изменении освещения сохраняются, но изменяется амплитуда колебаний акрофаз мезорных значений. При постоянном освещении наименьшая амплитуда колебаний акрофаз мезора зарегистрирована для показателя холестерина, наибольшая – для показателя щелочной фосфатазы. При постоянной темноте наименьшая амплитуда колебаний акрофаз мезора проявилась у показателя общий билирубин сыворотки крови, наибольшая амплитуда – у показателя щелочной фосфатазы. Экстремальное изменение условий освещения приводит к изменению параметров, характеризующих биологические ритмы показателей сыворотки крови. Снижение количества достоверных ритмов, сдвиг акрофаз мезоров биохимических показателей свидетельствует о нарушении временной структуры биологических ритмов.

Таким образом, на модели с использованием крыс как экспериментальных животных и измененным режимом освещения методом косинор-анализа доказано развитие десинхроноза за счет сдвига акрофазы ряда биохимических показателей сыворотки крови. Данная модель может быть использована для изучения функционального состояние организма при световом десинхронозе и синхронизации с другими времязадателями.

ГЛАВА 4. КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА

Согласно данным литературы появляется все больше свидетельств о значительной взаимосвязи между циркадианными ритмами и окислительно-восстановительными системами. На уровне транскрипции клеточные часы контролируют содержание (качество и количество) многих антиоксидантных белков и кофакторов, необходимых для поддержания ox-redox гомеостаза. Также и наоборот, можно предположить, что за счет редокс-чувствительных транскрипционных факторов и ферментов функционирует транскрипционный осциллятор. Учитывая высокую филогенетическую сохранность, окислительно-восстановительные осцилляции могли предшествовать транскрипционному осциллятору и потому могут быть частью первичного циркадианного окислительно-восстановительно/метаболического осциллятора [381; 408]. Одним из основных редокс датчиков в клетке является молекула НАД⁺(Ф)/НАДН⁺(Ф), необходимая для процессов биоэнергетики, синтеза АТФ. Молекулы АТФ, в свою очередь, обеспечивают двигательную активность и необходимые когнитивные навыки для реализации видовых функций, адаптации к изменениям во внешней среде. Для синтеза достаточного количества молекул АТФ необходим кислород, основным сенсором которого в клетке является белок гипоксия-индуцибельный фактор HIF. Кислород является основным окислителем в клеточном метаболизме и большая часть метаболических реакций зависит от концентрации поступившего кислорода и в зависимости от уровня двигательной активности организма, когнитивных способностей утилизируется в определенных процессах. Поэтому показатели, оценивающие поведенческие процессы, процессы обучения и формирования памяти, являются интегральными показателями, характеризующие функциональное состояние организма. С другой стороны, изменение поведенческих процессов, эмоциональный фон влияет на скорость метаболических реакций, тем самым синхронизируя эндогенные биологические ритмы с реальной обстановкой во внешней среде [99; 102].

В связи с вышеизложенным для оценки взаимодействия эндогенного компонента биологических часов с внешним времязадателем были выбраны следующие показатели при изменении светового режима и при использовании нейротоксиканта:

- показатели, характеризующие антиоксидантный статус организма;
- биохимические показатели, оценивающие энергетический обмен, уровень обмена углеводов и липидов; концентрацию катехоламинов в плазме крови, нейротрофические факторы;

– показатели, оценивающие поведенческие реакции и когнитивные функции как интегральные показатели гомеостаза. Поведение лабораторных животных оценивалось в тесте «Открытое поле», когнитивные функции – в тесте «Условная реакция пассивного избегания». Длительность исследования составила 1 и 3 месяца.

4.1 Показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс до и после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

4.1.1 Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 1 месяц после изменения светового режима

Через 1 месяц после пребывания животных в условиях измененного светового режима в гемолизате эритроцитов было выявлено увеличение первичных продуктов ПОЛ (Таблица 6). Так, концентрация диеновых конъюгатов статистически достоверно увеличивается в группе «постоянное освещение» на 55,2%, а в группе «постоянная темнота» – на 65,7% по сравнению со значениями этого показателя в группе животных, находящихся в условиях обычного освещения.

Таблица 6 – Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крысы через 1 месяц после изменения светового режима

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
ВГ, мкмоль/gHb	19,3±0,8	15,3±0,7*	20,6±1,1
ДК, нмоль/gHb	3,8±0,4	5,9±0,5*	6,3±0,2*
МДА, нмоль/gHb	19,3±1,3	17,0±0,9	20,2±0,6
ГТ, U/gHb	211,4±6,8	169,7±7,3*	191±3,1*
СОД, U/gHb	3138,1±222,1	2650,4±527,5*	1837,4±141,5*
ГП, U/gHb	38,5±1,1	34,2±1,4*	38,3±0,5
Г-6-ФДГ, U/gHb	15,0±1,3	5,6±1,5*	9,5±0,7*

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Активность глутатионтрансферазы (ГТ), катализирующей превращения органических гидроперекисей в соответствующие спирты, достоверно снижается на 20% в группе «постоянное освещение» и на 10% в группе «постоянная темнота» по сравнению со значениями показателей группы «обычное освещение». Также в группе «постоянное освещение» достоверно снижается активность синергичного фермента – глутатионпексоксидазы, на 12% по сравнению с показателями из группы «обычное освещение».

Активность СОД достоверно снижается в группе «постоянное освещение» на 16%, а в группе «постоянная темнота» на 42% по сравнению со значениями показателей из группы «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Также снижается активность Г-6-ФДГ в группе «постоянное освещение» на 63% ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота» на 37% ($p \leq 0,05$) по сравнению с активностью фермента в группе «обычное освещение». Концентрация ВГ достоверно снижается на 19,4% только в группе «постоянное освещение».

Данные изменения свидетельствуют о снижении ресурсов антиоксидантной системы при полярном изменении светового режима. Идентичность изменений, которые обнаруживаются при воздействии постоянного освещения и постоянной темноты, возможно, связаны с нарушенной суточной периодичностью синтеза мелатонина. Мелатонин проявляет мощное прооксидантное и антиоксидантное действие. Синтез мелатонина зависит от степени освещенности и осуществляется под влиянием ферментов, активность которых зависит от режима освещения. Поэтому свет – это главный сигнал окружающей среды, подавляющий активность N-ацетилтрансферазы, то есть синтез мелатонина. Выброс мелатонина контролируется супрахиазматическими ядрами (СХЯ), и в свою очередь, мелатонин, воздействуя на рецепторы СХЯ и смежных участков, способен блокировать СХЯ. Измененная длина суток приводит к частичной десинхронизации суточного ритма секреции мелатонина с циклом «сон-бодрствование».

4.1.2 Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 3 месяца после изменения светового режима

В результате проведенного исследования выявлена интенсификация окисления фосфолипидов мембран по свободно-радикальному механизму. Так, концентрация диеновых конъюгат в «группе постоянное освещение» повышается на 36,4%, а в группе «постоянная темнота» – на 90,9% по сравнению с показателями группы «обычное освещение» ($p \leq 0,05$) (Таблица 7).

Активность ГТ в гемолизате обеих групп с измененным световым режимом значимо снижается: на 31,4% – в группе «постоянное освещение» и на 14,8% – в группе «постоянная

темнота» по сравнению со значениями показателей из группы «обычное освещение». Через 3 месяца эксперимента активность глутатионпероксидазы достоверно повышается в обеих группах с измененным световым режимом: в группе «постоянное освещение» на 27,2 % и в группе «постоянная темнота» на 33,3% по сравнению с показателями из группы «обычное освещение». Активность Г-6-ФДГ снижается в группе «постоянное освещение» на 33,3% ($p < 0,05$) и в группе «постоянная темнота» на 27,7% ($p < 0,05$) по сравнению с показателями группы «обычное освещение». Активность СОД во всех группах животных находится примерно на одном уровне.

Таблица 7 – Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крысы через 3 месяца после изменения светового режима

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
ВГ, мкмоль/gHb	12,5±1,2	11,2±1,1	13,8±2,5
ДК, нмоль/gHb	3,3±0,1	4,5±0,2*	6,3±0,7*
МДА, нмоль/gHb	12,1±0,2	19,1±0,7*	18,3±1,0*
ГТ, U/gHb	188,2±6,5	129,4±11,0*	160,5±10,1*
СОД, U/gHb	2362,1±127,3	2332,4±124,9	2420,5±84,4
ГП, U/gHb	32,9±0,6	42,0±1,5*	44,0±3,1*
Г-6-ФДГ, U/gHb	18,2±0,9	12,2±0,4*	13,0±0,7*
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)			

Таким образом, анализ результатов значений показателей системы АОС и процессов ПОЛ у крыс, находящихся в условиях измененного светового режима в течение 3 месяцев показал, что в результате процессов ПОЛ нарастает уровень МДА и клеточные компоненты могут атаковаться данным альдегидом. Это индуцирует образование беспорядочных поперечных сшивок между различными группами белков и липидов, что снижает жизнеспособность клетки, способствует развитию патологического процесса.

4.1.3 Показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

В результате проведенного исследования установлено, что через 1 месяц после

отравления тиопенталом натрия у животных, находившихся при обычном световом режиме, концентрация диеновых конъюгат увеличилась на 57% по сравнению с группой контрольных животных ($p \leq 0,05$) (Таблица 8). Активность ферментного звена АОС также снизилась: активность ГТ – на 13%, СОД – на 20% и Г-6-ФДГ – на 18% по сравнению с аналогичными значениями показателей из группы контроля. Однократное острое отравление тиопенталом натрия в дозе LD50 через 1 месяц эксперимента оказало воздействие на процессы ПОЛ мембран эритроцитов с выраженными отдаленными последствиями. Эти последствия связаны с качеством фосфолипидного состава мембран и соответственно измененной проницаемостью для молекул кислорода и углекислого газа. Снижение активности ферментов может говорить о компенсации процессов инактивации активных форм кислорода за счет неферментного звена, например, ненасыщенных жирных кислот.

Таблица 8 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крысы после «усиления окислительного давления» через 1 месяц при обычном освещении и изменении светового режима

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
ВГ, мкмоль/gHb	19,3±0,8	20,1±1,3	16,7±0,5*#	19,1±1,2
ДК, нмоль/gHb	3,8±0,4	6,0±0,3*	5,2±0,2*#	6,0±0,3*
МДА, нмоль/gHb	19,3±1,3	19,5±1,2	16,1±0,4*#	18,1±0,8
ГТ, U/gHb	211,4±6,8	184,0±12,3*	143,1±4,6*#	139,2±8,9*#
СОД, U/gHb	3138,1±222,1	2532,6±206,9*	3190,0±368,2#	2293,5±198,9*
ГП, U/gHb	38,5±1,1	37,5±1,0	31,4±2,1*#	41,9±1,0#
Г-6-ФДГ, U/gHb	15,0±1,3	12,4±1,2*	6,0±0,9*#	10,4±0,6*
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$) # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)				

Проведенное экспериментальное исследование позволило установить, что сочетанное действие двух факторов – «усиление окислительного давления» и изменения светового режима выразилось в более выраженных изменениях изучаемых показателей. Это свидетельствует об участии системы антиоксидантной защиты и процессов ПОЛ в поддержании гомеостаза и патогенезе последствий «окислительного давления» в условиях светового десинхроноза. Так,

концентрация восстановленного глутатиона (ВГ) в группе отравленных животных с постоянным освещением снижается на 16,9% ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 13,5% по сравнению с группой «обычное освещение». Активность СОД изменяется разнонаправлено в группах с измененным световым режимом: в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» повышается на 25,9% ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» снижается на 9,4% ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями группы «обычное освещение+тиопентал натрия». Активность ГТ в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» снижается на 22,2% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 32,3% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). В группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» активность ГТ достоверно снижается на 24,3% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 37,1% по сравнению с группой «обычное освещение». В тоже время активность синергичного фермента ГП изменяется разнонаправлено: в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» снижается на 16,2% ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» повышается на 11,7 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой «обычное освещение». Также более выражено снижается активность Г-6-ФДГ: в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» – на 51,6% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 60,0% по сравнению с группой «обычное освещение», а в группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» – на 16,1% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 30,7% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Концентрация диеновых конъюгатов (ДК) в группах отравленных животных при измененном световом режиме остаются повышенными: на 36,6% (постоянное освещение) и на 57,9% (постоянная темнота) по сравнению с группой «обычное освещение». Полученные данные свидетельствуют, что при отравлении тиопенталом натрия в дозе LD50 повреждаются липиды мембран клеток по свободнорадикальному механизму, что способствует интенсификации процессов ПОЛ с одновременной активацией ферментного и неферментного звена АОС клетки. В результате изменение структуры эритроцитарных мембран может приводить к изменению скорости диффузии через них O_2 и CO_2 , что является фактором тканевой гипоксии. Изменение светового режима приводит к отягощению последствий после оказанного «окислительного давления». Особенно это заметно проявилось в группе «постоянное освещение», где более выражено снизилась активность Г-6-ФДГ, связанной с окислительно-восстановительными парами, $НАД^+(Ф)/ НАДН^+(Ф)Н^+$, и концентрация ВГ, одной из ключевых молекул в организации окислительно-восстановительного контроля в клетке.

4.1.4 Показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

В результате проведенного исследования установлено, что через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия у животных, находившихся при обычном световом режиме, концентрация ВГ снижается на 26,4% ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 9). Также в данной группе экспериментальных животных повышается концентрация ДК и МДА на 45,4% и 10,7%, соответственно, по сравнению с показателями контрольной группы ($p \leq 0,05$). Активность также ГТ снизилась на 38,0% по сравнению с контрольной группой.

Таблица 9 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крысы через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении и измененном световом режиме

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
ВГ, мкмоль/gHb	12,5±1,2	9,2±0,2*	11,2±0,5#	9,9±0,7
ДК, нмоль/gHb	3,3±0,1	4,8±0,3*	7,8±0,6*#	6,1±0,6*#
МДА, нмоль/gHb	12,1±0,2	13,4±0,6*	19,9±1,2*#	20,8±0,9*#
ГТ, U/gHb	188,2±6,5	116,5±11,2*	124,7±5,1*	120,7±6,1*
СОД, U/gHb	2362,1±127,3	2377,1±212,9	2376,9±213,5	2553,4±185,5
ГП, U/gHb	32,9±0,6	35,7±0,8	44,6±2,8*#	47,8±5,2*#
Г-6-ФДГ, U/gHb	18,2±0,9	19,4±0,7	13,7±0,8*#	14,5±0,4*#

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$) # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Через 3 месяца изменения светового режима и «усиления окислительного давления» нарастает окисление фосфолипидов мембран по свободнорадикальному механизму. Так, концентрация ДК в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» повышается на 62,5% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 136,4% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 27,1% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 84,8% по

сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Концентрации МДА в группах с измененным световым режимом повышается также более выражено: в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» – на 48,5% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 64,5% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» – на 55,2% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 71,9% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Активность ГТ в группах отравленных животных с измененным световым режимом оставалась достоверно сниженной по сравнению с группой «обычное освещение»: на 33,7% (постоянное освещение) и на 35,9% (постоянная темнота). Активность Г-6-ФДГ в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» снизилась на 29,3% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 24,7% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» – на 25,2% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 20,3% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Изменение активности ГП носило противоположный характер. Так, в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» выявлено повышение на 18,9% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 35,6% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$), а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 33,9% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 45,3% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

4.1.5. Обсуждение результатов, полученных при исследовании показателей АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Проведенное исследование установило, что 1 месяц светового десинхроноза статистически достоверно изменяет количественные показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов вследствие смешанной формы гипоксии. Связь между циркадианной ритмичностью синтеза ферментов и субстратов АОС и ПОЛ в клетке и/или образованием (детоксикацией) окислителей может быть двусторонней. То есть ритмическая активность антиоксидантных ферментов определяется не только количеством окислителей, но и оксидативный стресс может также влиять на временные паттерны или амплитуды ритмов. Соответственно, при изменении количества АФК появляется гипотетическая возможность повлиять на ритмическую активность периферических осцилляторов.

Окислители могут периодически образовываться под действием как экзогенных, так и эндогенных факторов. Свободные радикалы – это неизбежные побочные продукты,

образующиеся в процессе транспорта электронов по дыхательной цепи, которые используются для антибактериальной защиты, как косубстраты некоторых ферментов [61]. Следовательно, циркадианные ритмы вариаций метаболических реакций, связанных с локомоторной функцией, деятельностью мозга, должны приводить к соответствующим временным паттернам образования оксидантов. Таким образом, организмы защищаются от периодического повышения АФК с помощью компенсаторных антиоксидантных ритмов.

В результате светового десинхроноза развивается гипоксия и нарушается чувствительность PAS-доменов содержащих белков к кислороду, что нарушает окислительно-восстановительный потенциал клеточной системы, нарушается количество и распределение окислителей и восстановителей в прекурсорах для поставки электронов и протонов для редокс пар, таких как $\text{НАД}^+/\text{НАДН}^+$, $\text{НАДФ}^+/\text{НАДФН}^+$, молекула глутатиона GSSG/GSH [160; 166]. Одновременно нарушение циркадианных ритмов способствует нарушению суточных ритмов активности антиоксидантных ферментов и синтеза низкомолекулярных антиоксидантов [348; 349].

В результате пребывания животных в условиях измененного светового режима в течение 1 месяца в гемолизате эритроцитов было выявлено достоверное увеличение первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ).

Процесс перекисного окисления липидов описывается как процесс, в котором окислители, такие как свободные радикалы или нерадикальные частицы атакуют липиды, содержащие углерод-углеродную двойную связь, особенно полиненасыщенные жирные кислоты, которые при отщеплении водорода от углерода вводят атом кислорода, что приводит к образованию пероксильных радикалов и гидроксипероксидов. Липиды могут окисляться также ферментами липооксигеназами, циклооксигеназами, цитохромом P-450. В ответ на перекисное окисление липидов мембран и в соответствии с конкретными клеточными метаболическими условиями и возможностей для восстановления, клетки или выживают или индуцируется клеточная смерть. При физиологическом перекисном окислении клетки стимулируют свое выживание за счет активации конститутивной антиоксидантной защиты или сигнальных путей, которые активируют белки-антиоксиданты, вызывающие адаптивную стрессовую реакцию. В случае высокой скорости перекисного окисления липидов, степень окислительного повреждения превышает способность к восстановлению, что способствует развитию патологических состояний [61].

Продуктами перекисного окисления липидов являются диеновые конъюгаты – соединения, образующиеся в результате перегруппировки двойных связей в ПНЖК, и различные альдегиды, например, малоновый диальдегид. Малоновый диальдегид уже много лет используется в качестве биомаркера перекисного окисления липидов омега-3 и омега-6 жирных

кислот из-за реакции с тиобарбитуровой кислотой. Совместное использование количественных показателей ДК и МДА является достаточно надежным маркером оксидативного стресса. Таким образом, интенсификация процессов ПОЛ свидетельствует об оксидативном стрессе [61].

Также в группах с измененным световым режимом выявлено достоверное снижение активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, по сравнению со значениями показателей из группы обычное освещение. В большинстве условий при оксидативном стрессе одновалентный поток превращается в двухвалентный поток, который генерирует H_2O_2 как общий продукт этих реакций и являющейся одной из активных форм кислорода (АФК). Известно, что АФК ингибируют активность ферментов-антиоксидантов СОД, каталазы, ГП, защищающих друг друга непосредственно от инактивирующего действия образующихся АФК. Так, СОД, разрушая супероксид-анион радикал, снижает тем самым образование гидроксильного радикала, который служит проксидантом ПОЛ. Продукты ПОЛ (МДА, ДК) – потенциальные ингибиторы глутатионпероксидазы [60; 61; 71]. В свою очередь, каталаза и глутатионпероксидаза предохраняют СОД от инактивации, устраняя H_2O_2 . СОД защищает каталазу от инактивирующего действия супероксид-анион радикала. Поэтому кооперативное снижение активностей антиоксидантных ферментов через 1 месяц светового десинхроноза свидетельствуют об оксидативном стрессе и увеличении концентрации H_2O_2 . Реакция восстановления H_2O_2 до H_2O сопряжена с окислением восстановленного глутатиона (ВГ), концентрация которого, также снижается в результате 30-тидневного светового десинхроноза. Также повышение концентрации пероксидов может влиять на активность некоторых ферментов - киназ, фосфатаз и тем самым изменять направленность метаболических потоков [60; 216].

С одновременным снижением концентрации ВГ ингибируется активность фермента Г-6-ФДГ по сравнению с активностью фермента в группе обычное освещение.

Тиолы являются одними из самых чувствительных функциональных групп для модификации химическими веществами. Трипептид глутатион представляет собой наиболее распространенный из тиолов в эукариотических клетках и часто описывается как реостат окислительно-восстановительного состояния клеточной системы. В клетках восстановленный глутатион существует в паре с окисленным глутатионом, глутатиондисульфид (GSSG). Сохранение оптимального соотношения восстановленного глутатиона к окисленному является важным условием жизнеспособности клетки [181; 277; 278].

Соотношение поддерживается ферментом глутатионредуктазой – ФАД⁺-содержащим ферментом, использующим восстановительную энергию НАДФН⁺, который образуется в глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной реакции пентозофосфатного цикла в эритроцитах. По одним

данным литературы считается, что в стационарных условиях в клетке преобладает количество восстановленного глутатиона, по другим данным – глутатиондисульфида. Двухэлектронные оксиданты играют центральную роль в оксидативной реакции на стресс. Среднее содержание ВГ в клетках около 1 мМ [429]. Трипептид служит своеобразной формой кратковременного хранения аминокислоты цистеина в виде нуклеофила и в качестве антиоксиданта. Ферменты с активным участком Cys включают каспазы, киназы, фосфатазы и протеазы, пероксиредоксины, в активных центрах ферментов детоксикации – трансферазы глутатиона, цитохромы P-450, тиоредоксинредуктазы. Cys является компонентом активных центров железосерных кластеров белков-переносчиков электронов. Цистеин – это компонент цинковых пальцев в факторах транскрипции и цинк-связывающих доменах металлотioneинов. Окисление цистеина путем S-глутатионилирования регулирует активность глицеральдегид 3-фосфатдегидрогеназы и каспазы-3 [504; 555]. Отмечается циркадианная ритмичность синтеза ВГ [429].

Снижение концентрации ВГ может быть связано с истощением запасов данного трипептида в эритроцитах вследствие снижения его синтеза *de novo*, что требует затрат АТФ и снижение возможностей его рециклизации. Основным ферментом, поддерживающим редокс-гомеостаз глутатиона, является НАДФ⁺-зависимая глутатионредуктаза. Концентрация НАДФ⁺ и его восстановленной формы в эритроцитах зависит от активности Г-6-ФДГ, фермента пентозофосфатного цикла, который проявил снижение активности [60].

Через 3 месяца светового десинхроноза концентрация восстановленного глутатиона в группах с измененным световым режимом значимо не отличается от контрольной группы. Возможно, так как нарушена периодичность поступления светового сигнала, то ритмичность синтеза ВГ может свидетельствовать о преимущественно эндогенном контроле синтеза одного из основных антиоксидантов, слабо зависимом от экзогенных факторов или используются сульфгидрильные группы других белков клетки. Также концентрация диеновых конъюгат остается повышенной в гемолизате проб из групп с измененным световым режимом по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об активации процессов свободнорадикального окисления липидов мембран, что нарушает целостность мембраны за счет изменения ее текучести и способствует инактивации мембраносвязанных белков.

Активность ферментов ГП и ГТ меняется разнонаправленно. Активность глутатионпероксидазы достоверно повышается, а активность глутатионтрансферазной реакции, наоборот, снижается. Активность СОД достоверно не изменяется. Это свидетельствует о дисбалансе в антиоксидантной защите клетки в условиях длительного светового десинхроноза.

По данным литературы одними из главных белков, защищающими клетки и эритроциты, в частности, от оксидативного стресса, является белки пероксиредоксины и являются в эритроцитах вторыми белками после гемоглобина. Недавно была выявлена связь

пероксиредоксинов с циркадными ритмами. Несмотря на то, что эритроциты являются анулеарными клетками, в 1976 году в работах Корнелиуса и Ренсинга были обнаружены ритмы Mg^{2+} -АТФ зависимой АТФазы в мембране эритроцита. Также были показаны колебания уровня глутатиона, других тиолов в тромбоцитах человека [381]. Основной мишенью действия пероксиредоксинов является перекись водорода, но некоторые изоформы этого фермента в качестве субстрата используют гидроксипероксиды фосфолипидов мембран [401; 408]. Считается, что одним из вариантов регуляции активности этих ферментов является их гипероксидация. Пероксиредоксины способны восстанавливать гидропероксиды органической и неорганической природы. Циркадные ритмы влияют на их посттрансляционную модификацию [236]. Так как эритроциты млекопитающих не содержат ядра, то посттрансляционные модификации белков возникают в начале процесса созревания эритроцитов. Авторы О'Нейл и Редди считают, что пероксиредоксины можно рассматривать как маркеры циркадианных ритмов. В эритроцитах Prx2 – изоформа своей С-концевой частью связан с мембранными белками, поэтому нокаут по генам данного белка, вызывает гемолитическую анемию. Основной мишенью пероксиредоксинов является перекись водорода и за счет транспорта электронов от НАДФН⁺ на H_2O_2 с последующим восстановлением до воды [285]. Пероксиредоксины могут обратимо окисляться и восстанавливаться. Уровень переокисленных форм меняется с периодом в 24 часа. Переокисление пероксиредоксинов приводит к потере ими функциональной активности, что согласно «модели шлюза» делает возможным H_2O_2 – опосредованный сигналинг в клетке, необходимый для дальнейшей мобилизации и защиты от оксидативного стресса [345; 346].

Для каталитического цикла пероксиредоксинов необходимо достаточное количество ВГ и ферментов ГТ, Г-6-ФДГ активность которых снижается в течение всего периода наблюдений, что свидетельствует о развивающемся оксидативном стрессе в течение всего периода наблюдений. Также известно, что пероксиредоксиновый механизм отличается низкой скоростью пероксидазной реакции по сравнению с глутатионпероксидазой [285], поэтому увеличение активности ГП в группах с измененным световым режимом свидетельствует об оксидативном стрессе и нарушении гомеостаза тиоловых систем.

Исходя из выше изложенного, длительный световой десинхроноз способствует поддержанию гипоксических условий и тем самым нарушает функционирование первичного циркадианного окислительно-восстановительного осциллятора. Таким образом, возможное участие циркадианной ритмичности в генерации окислителей является запрограммированной адаптивной реакцией организма. И если данная взаимосвязь двусторонняя, то возможно, изменение концентрации окислителей может иметь действие на периферические окислительно-восстановительные осцилляторы и их синхронизацию с внешними условиями освещения. Для

«усиления окислительного давления» в окислительно-восстановительном осцилляторе в эксперименте был использован тиопентал натрия в дозе LD50 – производное барбитуровой кислоты. Отравление препаратами данной группы приводит к гипоксии, поражению биологических мембран и нарушениям микроциркуляции [366].

В нашем эксперименте после острого отравления тиопенталом натрия («окислительное давление») выжившие животные были помещены в условия разных режимов освещения: обычное освещение (светодиодное освещение 12:12), постоянное освещение, постоянная темнота. Показатели АОС и ПОЛ определяли через 1 и 3 месяца после перенесенного отравления.

В случае «усиления окислительного давления» с последующим изменением светового режима через 1 месяц исследования концентрация диеновых конъюгатов и малонового диальдегида в гемолизате проб в группе при постоянном освещении достоверно снижены по сравнению с аналогичными показателями в группе обычное освещение и без светового десинхрониза (концентрации ДК и МДА через 1 месяц были повышены). Концентрация ВГ в группе с постоянным освещением снижается по сравнению со значением показателя из группы обычное освещение, что согласуется с данными литературы о взаимосвязи регуляции I комплекса дыхательной цепи с величиной GSH/GSSG. S- глутатионирование комплекса I защищает от необратимого окисления и одновременно контролирует образование АФК в митохондриях. Значимо снижается активность Г-6-ФДГ, ГТ в гемолизате крови групп с постоянным освещением и с постоянной темнотой по сравнению с группой обычное освещение. Данные изменения характерны при развитии оксидативного стресса.

Активность СОД изменяется разнонаправленно в группах с измененным световым режимом. В группе постоянное освещение повышается на 25,9% ($p \leq 0,05$), а в группе постоянная темнота снижается на 9,4% ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателями из группы обычное освещение. Без действия «окислительного давления» активность СОД в условиях светового десинхрониза понижалась, но наиболее выражено в условиях постоянной темноты. Также разнонаправленно изменяется активность ГП в гемолизате проб, в группе с постоянным освещением снижается на 16,2% ($p \leq 0,05$), а в группе постоянная темнота, наоборот, повышается на 11,7 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с обычным освещением. Возможно, это связано со сменой стратегии сохранения устойчивости биосистемы данного уровня, а именно, потоков энергии в окислительно-восстановительных процессах. Для исследования сочетанного воздействия на организм двух факторов, «усиления окислительного давления» и изменения освещения, проводился двухфакторный дисперсионный анализ, позволяющий количественно определить вклад каждого фактора по отдельности, их взаимодействия и неконтролируемые факторы (через 1 месяц – Таблицы 10 и 11, через 3 месяца – Таблицы 12 и 13).

Вклад фактора А («усиление окислительного давления») при постоянном освещении через 1 месяц проявился в активности двух ферментов эритроцитов ГТ (ФД=0,190) и ГП (ФД=0,117). Вклад фактора В (освещение) в данном случае наиболее выражен. Наиболее весомо это проявилось на ВГ (ФД=0,497), на активности ГТ (ФД=0,429), Г-6-ФДГ (ФД=0,493), ГП (ФД=0,350).

Таблица 10 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,011	0,485	0,497	0,0002*	0,200	0,368	0,469
МДА	0,036	0,305	0,136	0,054*	0,162	0,037*	0,658
ДК	0,033	0,289	0,052	0,180	0,347	0,002*	0,523
ГТ	0,190	0,004*	0,429	0,0001*	$1,01 \times 10^{-3}$	0,816	0,378
Г-6-ФДГ	0,013	0,461	0,493	0,0001*	0,023	0,322	0,468
СОД	0,003	0,818	0,0004	0,923	0,084	0,187	0,912
ГП	0,117	0,048*	0,350	0,002*	0,0014	0,820	0,528
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 11 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,027	0,458	0,003	0,759	0,734	0,563	0,950
МДА	0,0042	0,727	0,043	0,275	0,247	0,009*	0,680
ДК	0,267	0,001*	0,122	0,019*	0,245	0,002*	0,377
ГТ	0,127	0,006*	0,469	1,017	0,127	0,006*	0,275
Г-6-ФДГ	0,017	0,503	0,203	0,026*	0,058	0,210	0,717
СОД	0,0043	0,740	0,192	0,035*	0,0507	0,259	0,752
ГП	$9,12 \times 10^{-3}$	0,591	0,0914	0,099	0,288	0,006*	0,612
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Вклад фактора А («усиления окислительного давления») при постоянной темноте через 1 месяц проявился в эритроцитах на концентрации ДК (ФД=0,267) и активности ГТ (ФД=0,127). Вклад фактора В (освещение) наиболее весомо проявился на активности Г-6-ФДГ (ФД=0,203), СОД (ФД=0,192) и концентрации ДК (ФД=0,122).

Сопоставление значений коэффициентов детерминации между группами, показало, что контролируемые факторы («усиление окислительного давления» и изменение светового режима) проявляют взаимодействие и вносят значимый вклад в реакцию АОС и ПОЛ на сочетанное действие двух факторов. Через 1 месяц эксперимента наиболее выраженное взаимодействие проявилось на показателях МДА, ДК, ГП и ГТ в группе постоянная темнота, в группе постоянное освещение эффект взаимодействия проявился на показателях ДК и МДА, но вклад показателя ДК наибольший (ФД=0,347).

Данный метод анализа свидетельствует, что через 1 месяц изменения светового режима при «усилении окислительного давления» протопорфириновая структура гемовой части гемоглобина как мощный фотосенсибилизатор и источник АФК в эритроцитах, реагирует на изменение светового режима. При постоянном освещении наибольшее давление оказывается на систему восстановленного глутатиона и эффект взаимодействия проявляется на показателях ПОЛ. Данные изменения приводят к изменению проницаемости мембран эритроцитов, а значит, способности гемоглобина отдавать кислород в клетки. При постоянной темноте влияние каждого фактора сказывается на концентрации ДК и активности фермента пентозофосфатного пути Г-6-ФДГ.

Таблица 12 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,0054	0,705	0,128	0,0776	0,127	0,0779	0,736
МДА	0,781	2,239	0,017	0,2002	0,0069	0,794	0,198
ДК	0,426	$9,567 \times 10^{-7*}$	0,329	$4,950 \times 10^{-6*}$	0,060	0,017*	0,171
ГТ	0,308	0,0002*	0,151	0,005*	0,236	0,0008*	0,304
Г-6-ФДГ	0,036	0,078	0,739	8,568	0,0006	0,816	0,221
СОД	0,0014	0,867	0,364	0,933	0,356	0,934	0,998
ГП	0,051	0,122	0,561	2,826	0,001	0,963	0,387
ГР	0,009	0,678	0,001	0,908	0,016	0,568	0,974

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Вклад фактора А («усиления окислительного давления») при постоянном освещении через 3 месяца проявился в активности фермента эритроцитов ГТ (ФД=0,308) и концентрации ДК (ФД=0,426). Вклад фактора В (освещение) также проявился концентрации ДК (ФД=0,329) и в активности ГТ (ФД=0,151) (Таблица 12). Вклад фактора А (отравление) в эффект последствий острого отравления при постоянной темноте через 3 месяца проявился в эритроцитах на концентрации ВГ (ФД=0,227) и активности ГТ (ФД=0,635). Вклад фактора В (освещение) наиболее весомо проявился на концентрации ДК (ФД=0,448) и активности ГП (ФД=0,401) (Таблица 13).

Таблица 13 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,227	0,023*	0,016	0,5221	0,0016	0,837	0,752
МДА	0,421	3,348	0,280	4,469	0,089	0,008*	0,208
ДК	0,038	0,204	0,448	0,0002*	0,067	0,096	0,444
ГТ	0,635	$1,58 \times 10^{-6}$ *	0,033	0,139	0,048	0,079	0,283
Г-6-ФДГ	0,047	0,070	0,694	4,337	0,001	0,814	0,257
СОД	0,010	0,650	0,026	0,473	0,006	0,717	0,957
ГП	0,033	0,295	0,401	0,0012*	0,001	0,860	0,566
ГР	0,111	0,124	0,003	0,7962	0,006	0,707	0,877
* – Достоверность при $p \leq 0,05$							

Через 3 месяца эксперимента количество показателей, проявляющих эффект взаимодействия сокращается. Наиболее существенно в группе постоянное освещение вклад ГТ больше (ФД = 0,236). Можно предположить, что при постоянной темноте, когда нарушается связь PAS-домен содержащих белков с кислородом, то клеточная осцилляция осуществляется на уровне обратимого окисления и восстановления пероксиредоксинов. При постоянном освещении регуляция окислительного гомеостаза происходит еще и за счет использования ВГ как косубстрата глутатион-S-трансферазной реакции для s-глутатионилирования белков, некоторых изоформ пероксиредоксинов (Ргх6) [323]. Это может быть связано с изменением изоферментного состава пероксиредоксинов в эритроцитах при усилении генерации АФК в

результате сочетанного действия факторов различной природы. Также s-глутатионилирование белков играет важную роль в механизмах клеточного сигналинга за счет изменения чувствительности остатков цистеина к редокс-модификации, изменению активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы – фермента гликолиза, то есть регулируют обратимое окисление тиоловых активных центров ферментов, изменяя их активность и соответственно, метаболические потоки [60].

Результаты оценки аддитивности выявленных показателей взаимодействия двух независимых патологических процессов при одновременном их моделировании представлены в Таблице 14. Проведенное исследование подтверждает, что связанные с «усилением окислительного давления» последствия проявляются на показателях АОС эритроцитов через 1 и 3 месяца. Данные изменения могут модифицировать выраженность некоторых показателей при длительном световом десинхронозе. Усиливающее действие проявилось для показателей концентрации ДК в условиях постоянного освещения, ДК и активности ГТ в условиях постоянной темноты через 1 месяц светового десинхроноза. При этом выявлена извращенная реакция показателя ПОЛ в условиях постоянного освещения в течение 1 месяца – концентрации МДА, так как игнорируется фактор отравления. Через 3 месяца потенцирование проявилось для показателя МДА в условиях постоянной темноты. Таким образом, выявлено двухстороннее взаимодействие показателей перекисного окисления липидов ДК и МДА и фермента ГТ после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 в условиях светового десинхроноза. Усиление процессов ПОЛ в клеточных мембранах эритроцитов приводит к уплотнению или деструкции липидного бислоя, нарушению функциональной активности белков (ферментов, рецепторов). В утилизации альдегидов активное участие принимает ГТ и ВГ. При длительном световом десинхронозе этот путь катаболизма альдегидов становится малодоступным, что приводит к нарушению выполняемых функций эритроцитами.

Таблица 14 – Оценка аддитивности взаимодействия исследуемых процессов АОС в гемолизате эритроцитов крыс (тиопентал натрия, 1 мес, 3 мес)

Постоянное освещение					Постоянная темнота					
1 месяц светового десинхрониза после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50										
Показатель, ед. измерения	Влияние фактора			Сумма эффектов A+B	ИА, оценка взаимодействия	Влияние фактора			Сумма эффектов A+B	ИА, оценка взаимодействия
	А отравление	В освещение	A*B			А отравление	В освещение	A*B		
МДА, U/gHb	+0,2	-2,3	-3,2	-2,1	Игнорирование фактора А	+0,2	+0,9	-1,2	+1,1	антагонизм
ДК, U/gHb	+2,2	+2,1	+1,43	4,3	антагонизм	+2,2	+2,5	+2,2	+4,7	потенцирование
ГТ, U/gHb						-27	-20	-72	-47	1,5 потенцирование
ГП, U/gHb						-1	-0,2	+3,4	-1,2	антагонизм
3 месяца светового десинхрониза после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50										
ДК, U/gHb	+1,5	+1,2	+4,5	+2,7	1,6 потенцирование					
ГТ, U/gHb	-71,7	-58,8	-63,5	-130,5	0,48 частичный антагонизм					
МДА, U/gHb						+1,3	+6,2	+8,7	+7,5	1,16 потенцирование

4.2 Показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей мозга крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Для экспериментального исследования было выбрано производное барбитуровой кислоты – тиопентал натрия, с помощью которого достигалось «усиление окислительного давления» в тканях мозга крыс. Отравление препаратами данной группы приводит к гипоксии, поражению биологических мембран и нарушения микроциркуляции. При этом развитие гипоксии происходит по гипоксическому типу (угнетение дыхательного центра), циркуляторному типу (за счет сердечно-сосудистой недостаточности). Тканевая форма гипоксии развивается за счет достаточно длительного снижения аэробного дыхания клеток [79] из-за невозможности переноса электронов на уровне коэнзим Q-цитохром С оксидоредуктазы, а также снижения активности сукцинатдегидрогеназы, что, в свою очередь, приводит к нарушению функций митохондрий, процессам ресинтеза аденозинтрифосфата (АТФ) и гибели нейронов [102]. Все вышеперечисленное является причиной усиления процессов свободнорадикального окисления, накопления активных форм кислорода и свободных радикалов, вследствие чего происходит цитотоксическое повреждение при острых отравлениях и запускаются процессы программированной гибели нервных клеток (апоптоз). Это в свою очередь определяет развитие органических поражений головного мозга в будущем, что находит свое отражение высокой инвалидизации при данном виде интоксикаций [156]. Гипотония – характерный симптом при отравлении барбитуратами [37]. В ее основе лежат процессы центрального угнетения сосудодвигательного центра, прямое кардиотоксическое действие и снижение тонуса сосудов.

В нашем эксперименте после острого отравления тиопенталом натрия выжившие животные были помещены в условия разных режимов освещения: обычное освещение (светодиодное освещение 12:12), постоянное освещение, постоянная темнота. Показатели АОС и ПОЛ определяли через 1 и 3 месяца после перенесенного отравления.

Как было отмечено ранее, световой десинхроноз способствует развитию смешанной формы гипоксии вследствие роста сродства гемоглобина к кислороду, изменению билипидного состава мембран эритроцитов, что в последующем приводит к сдвигу кривой диссоциации оксигемоглобина влево и затрудняет снабжение кислородом ткани.

4.2.1 Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга через 1 месяц светового десинхроноза

Через 1 месяц после пребывания животных в условиях постоянного освещения в гомогенате тканей головного мозга было выявлено достоверное увеличение диеновых конъюгатов на 7,3% по сравнению со значением этого показателя в группе «обычное освещение» (Таблица 15). Концентрация ДК в группе «постоянная темнота», напротив, снизилась на 9,9% ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой «обычное освещение». Концентрация МДА статистически значимо повышалась только в группе «постоянное освещение» – на 15,8% по сравнению с показателями группы «обычное освещение».

Таблица 15 – Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга крыс при обычном освещении, постоянном освещении, постоянной темноте через 1 месяц эксперимента

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
ВГ, мкмоль/gP	1,87±0,15	2,08±0,09	2,00±0,09
ДК, нмоль/gP	108,2±1,0	116,1±2,6*	97,4±0,8*
МДА, нмоль/gP	194,5±4,1	225,2±6,0*	185,1±8,4
ГТ, U/gP	356,1±5,9	298,6±9,0*	289,0±10,4*
СОД, U/gP	73,1±4,3	99,3±5,9*	121,0±4,7*
ГП, U/gP	2,03±0,07	1,86±0,03*	1,83±0,05*
ГР, U/gP	3,1±0,8	3,0±0,6	2,8±0,4
Г-6-ФДГ, U/gP	48,9±3	32,0±2,6*	35,6±2,5*

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Активность глутатионтрансферазы (ГТ) в гомогенате обеих групп с измененным световым режимом значимо снизилась на 16,1% – в группе «постоянное освещение», и на 18,8% – в группе «постоянная темнота» по сравнению с группой «обычное освещение». Активность синергичного фермента – глутатионпероксидазы, достоверно снизилась в группе «постоянное освещение» на 8,3%, а в группе «постоянная темнота» на 9,6% по сравнению с показателями из группы «обычное освещение». Активность СОД повышалась в гомогенате тканей мозга животных, находящихся в условиях с измененным световым режимом: в группе «постоянное

освещение» на 35,8%, а в группе «постоянная темнота» на 65,5% по сравнению со значениями показателей группы «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Также снижалась активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ), а именно, в группе «постоянное освещение» на 34,5% ($p \leq 0,05$) и в группе «постоянная темнота» на 27,1% по сравнению с активностью фермента в группе «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Данные изменения свидетельствуют о дисбалансе ресурсов антиоксидантной системы при крайних изменениях светового режима. Идентичность большей части изменений, которые обнаруживаются при воздействии постоянного освещения и постоянной темноты, возможно, связаны с нарушенной суточной периодичностью синтеза мелатонина. Мелатонин проявляет мощное прооксидантное и антиоксидантное действие в головном мозге. Синтез мелатонина зависит от степени освещенности, так как ключевой фермент его синтеза – N-ацетилтрансфераза подавляется светом. Выброс мелатонина контролируется супрахиазматическими ядрами (СХЯ), и в свою очередь, мелатонин, воздействуя на рецепторы СХЯ и смежных участков, способен блокировать СХЯ [285; 287; 308].

4.2.2 Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга через 3 месяца после изменения светового режима

В результате проведенного исследования выявлена интенсификация окисления фосфолипидов мембран тканей головного мозга по свободнорадикальному механизму (Таблица 16). Так, концентрация ДК в группе «постоянное освещение» на 11,7% выше по сравнению со значением показателя в группе «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). В группе «постоянная темнота» концентрация ДК повышалась на 9,2% по сравнению с показателями группы «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Концентрация МДА в обеих группах с измененным световым режимом также статистически значимо повышалась: в группе «постоянное освещение» – на 9,9%, а в группе «постоянная темнота» – на 18,4% по сравнению с показателями группы «обычное освещение». Активность ГТ в гомогенате тканей животных из обеих групп с измененным световым режимом достоверно снижалась на 25,8% – в группе «постоянное освещение» и на 19,4% – в группе «постоянная темнота» по сравнению со значениями показателей группы «обычное освещение». Активность синергичного ГТ фермента глутатионпероксидазы достоверно повышалась в группе «постоянная темнота» на 9,8% по сравнению с показателями группы «обычное освещение». В обеих группах с измененным световым режимом наблюдалось снижение активности Г-6-ФДГ: в группе «постоянное освещение» на 35,8%, в группе «постоянная темнота» на 28,6% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Активность СОД в гомогенате тканей животных, находящихся в условиях постоянного

освещения достоверно понижалась на 32,3% по сравнению с показателями группы обычное освещение.

Таблица 16 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс при обычном освещении, постоянном освещении, постоянной темноте через 3 месяца эксперимента

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
ВГ, мкмоль/gP	1,98±0,13	2,07±0,09	2,05±0,15
ДК, нмоль/gP	111,5±2,4	124,6±2,7*	121,8±2,4*
МДА, нмоль/gP	159,4±4,8	175,2±3,5*	188,8±6,3*
ГТ, U/gP	339,4±5,5	251,7±9,1*	273,4±10,7*
СОД, U/gP	62,7±7,3	42,4±3,6*	58,6±4,7
ГП, U/gP	2,33±0,12	2,63±0,05	2,56±0,07*
ГР, U/gP	2,7±1,2	3,5±0,3	4,0±0,9
Г-6-ФДГ, U/gP	49,9±1,8	32,0±3,0*	35,6±2,6*

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

4.2.3 Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс через 1 месяц изменения светового режима при «усилении окислительного давления»

Анализ экспериментальных данных показал, что через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в гомогенате тканей мозга животных, находившихся при обычном световом режиме, концентрация диеновых конъюгатов увеличилась на 2,9% по сравнению с группой контрольных животных ($p \leq 0,05$) (Таблица 17). Концентрация МДА достоверно увеличилась на 18,6% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Активность ГТ достоверно снизилась на 15,6%, а ГП, наоборот, повысилась – на 7,4% по сравнению с соответствующими показателями из группы контроля ($p \leq 0,05$). В условиях изменения светового режима, концентрация ДК в гомогенате тканей головного мозга крыс из группы «постоянное освещение+тиопентал натрия» достоверно повысилась на 4,7%, а в группе «постоянная темнота+ тиопентал натрия» снизилась на 9,4% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» ($p \leq 0,05$). Следует отметить, что концентрация ДК в тканях головного мозга группы «постоянная темнота+тиопентал натрия» была достоверно ниже на

13,5% по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия». Концентрация МДА в группах отравленных животных с измененным световым режимом возрастала более выражено: на 27,7% ($p \leq 0,05$) в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» и на 23,9% в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Активность СОД повышалась на 32,3% ($p \leq 0,05$) в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» и на 37,0% в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» ($p < 0,05$). По сравнению с группой «обычное освещение» активность СОД возрастала, соответственно на 22,7% и 27,1% ($p \leq 0,05$).

Таблица 17 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном освещении и световом десинхронозе

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
ВГ, мкмоль/гР	1,87±0,15	1,84±0,1	1,81±0,06	2,17±0,07
ДК, нмоль/гР	108,2±1,0	111,3±0,9*	116,6±1,6*#	100,8±0,8*#^
МДА, нмоль/гР	194,5±4,1	230,8±7,5*	248,3±2,1*	240,9±8,8*
ГТ, U/гР	356,1±5,9	300,5±6,9*	223,6±14,1*#	233,0±12,8*#
СОД, U/гР	73,1±4,3	67,8±4,3	89,7±3,6*#	92,9±3,8*#
ГП, U/гР	2,03±0,07	2,18±0,04*	1,95±0,03#	1,67±0,07*#^
ГР, U/гР	3,1±0,8	3,2±0,8	4,6±1,1	3,9±0,5
Г-6-ФДГ, U/гР	48,9±3,0	54,7±3,6	23,5±1,8*#	25,8±2,1*#
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); ^ - достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)				

В группах при «усилении окислительного давления» и с измененным световым режимом отмечалось более выраженное снижение активности ГТ: на 25,5% в группе с постоянным освещением и на 22,4% в группе с постоянной темнотой по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 37,2% и 34,6%, соответственно, по сравнению с группой

«обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Активность ГП более выражено снижалась в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия»: на 23,4% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 17,7% по сравнению с группой «обычное освещение» и на 14,4% по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия». Активность Г-б-ФДГ в группах «постоянное освещение+тиопентал натрия» и «постоянная темнота+тиопентал натрия» снизилась на 57,0% и на 52,8% по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение+тиопентал натрия», на 51,9% и на 47,2% по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

4.2.4 Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс через 3 месяца после « усиления окислительного давления» при световом десинхронозе

В результате проведенного исследования установлено, что через 3 месяца после «усиления окислительного давления» концентрация ДК в гомогенате тканей мозга в группе «обычное освещение+ тиопентал натрия» увеличилась на 6,1% ($p \leq 0,05$) по сравнению с показателем из контрольной группы (Таблица 18). Это в три раза выше, чем изменение концентрации ДК в пробах через 1 месяц после отравления. Концентрация МДА в данной группе повышалась на 32,4% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Этот показатель увеличился почти в два раза по сравнению с данными через 1 месяц после отравления. Активность ГТ через 3 месяца после отравления в группе с обычным освещением снизилась на 25,6%, а активность ГП повысилась на 32,6% по сравнению с контрольной группой ($p \leq 0,05$). Через 3 месяца после острого однократного отравления тиопенталом натрия и изменения светового режима процессы липопероксидации в тканях головного мозга сохранялись, причем были более выражены при постоянном освещении. Так, концентрация ДК в группе «постоянное освещение+ тиопентал натрия» достоверно повысилась на 4,8%, а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 1,2% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» ($p \leq 0,05$). Концентрация МДА повысилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 14,2%, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 12,7% по сравнению с группой «обычное освещение», но по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия» снизилась, соответственно, на 13,7% и 14,9% ($p \leq 0,05$). Активность ГП достоверно повышалась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 33,5%, в группе «постоянная темнота+ тиопентал натрия» на 47,6% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Активность ГТ в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» снижалась на 10,8%, а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» повышалась на 11,7% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» ($p \leq 0,05$).

Отмечалось достоверное повышение на 25,4% активности фермента в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия».

Таблица 18 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гомогенате тканей мозга крыс через 3 месяца «усиления окислительного давления» при обычном освещении и световом десинхронозе

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение +тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
ВГ, мкмоль/gP	1,98±0,13	1,72±0,12	1,59±0,1	1,66±0,11
ДК, нмоль/gP	111,5±2,4	118,4±1,3*	124,1±1,8*#	119,8±2,8*
МДА, нмоль/gP	159,4±4,8	211,2±7,3*	182,1±5,2*#	179,6±3,5*#
ГТ, U/gP	339,4±5,5	252,2±8,1*	224,8±9,5*#	281,9±8,7*#^
СОД, U/gP	62,7±7,3	66,4±5,1	41,0±5,7#	79,1±8,1^
ГП, U/gP	2,33±0,12	3,09±0,09*	3,11±0,11*	3,44±0,17*
ГР, U/gP	2,7±1,2	5,0±1,0	4,4±0,7	7,1±1,8*
Г-6-ФДГ, U/gP	49,9±1,8	46,1±1,5	28,4±2,2*#	31,2±1,9*#

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); ^ – достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Известно, что при изменении светового режима в тканях мозга происходит изменение активности СОД [69]. В проведенном исследовании выявлены разнонаправленные изменения. Активность СОД в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» снижалась на 38,3% по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия» ($p \leq 0,05$). В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» отмечалось статистически значимое повышение активности фермента на 92,9% по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия». Активность Г-6-ФДГ в группах «постоянное освещение+тиопентал натрия» и «постоянная темнота+тиопентал натрия» снижалась, соответственно, на 38,4% и на 32,3% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», на 43,1% и на 37,5% по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

4.2.5 Обсуждение результатов исследования показателей АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Проведенное исследование установило, что 1 месяц светового десинхроноза статистически достоверно изменяет количественные показатели АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс. В клетках головного мозга активность ферментов антиоксидантной защиты ниже, чем в других тканях, так как при активации нейронов происходит кратковременный рост АФК, что указывает на их возможную сигнальную функцию. Благодаря этой сигнализации, клетки приспосабливаются к изменяющимся условиям функционирования. Вспышка АФК в физиологических условиях является кратковременной и тушится за счет окислительно-восстановительного потенциала клетки [61]. При изменении светового режима наблюдается развитие смешанной формы гипоксии, нарушение обмена биогенных аминов, таких как дофамин, норадреналин, мелатонин, что способствует отклонению от сбалансированного метаболизма и нарушает контроль за стационарным уровнем АФК [100]).

Через 1 месяц после пребывания животных в условиях постоянного освещения в гомогенате тканей головного мозга крыс было выявлено достоверное увеличение диеновых конъюгатов, а в группе постоянная темнота, напротив, снижение по сравнению со значением этого показателя из группы с обычным освещением. Концентрация МДА в обеих группах с измененным световым режимом достоверно повышается. Достоверное разнонаправленное изменение концентрации ДК в группах с измененным световым режимом по сравнению с группой обычного освещения свидетельствует об активации процессов свободнорадикального окисления липидов мембран. Это, в конечном итоге, может приводить к потере целостности мембраны за счет изменения ее текучести и запустить инактивацию мембраносвязанных белков.

Через 3 месяца выявлено достоверное повышение концентрации ДК и МДА в обеих группах с измененным световым режимом. МДА химически устойчив и проницаем для биомембран и может действовать как сигнальный мессенджер, регулировать экспрессию генов, в частности, стимулируемую глюкозой секрецию инсулина. Также МДА может образовывать аддукты с различными белками и ДНК, приводящие к биомолекулярным повреждениям. Метаболизм МДА может включать его окисление митохондриальной альдегиддегидрогеназой с последующим декарбоксилированием с образованием ацетальдегида, который окисляется до ацетата и далее до CO_2 и H_2O . Также реакционная способность МДА возрастает при понижении рН, что делает его реакционно активным по отношению к нуклеофилам, например, к основным аминокислотам с образованием оснований Шиффа. Аддукты МДА биологически очень важны, так как способствуют внутримолекулярным или межмолекулярным сшивкам белка, что

вызывает изменение биохимических свойств биомолекул, которые накапливаются при старении или хронических заболеваниях. Аддуктами МДА могут модифицироваться белки-элонгационные факторы, необходимые для синтеза белка, что ингибирует данный процесс. В настоящее время известно более тридцати белков, которые могут быть модифицированы под действием МДА, включая белки цитоскелета клетки, ферменты, антиоксидантные белки [18; 61].

Через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе и изменения светового режима активность супероксиддисмутазной реакции повысилась в гомогенате ткани мозга животных, причем, наибольшее увеличение наблюдалось в группе постоянная темнота на 65,5%, по сравнению со значениями показателей из группы обычное освещение. Активность глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы в гомогенате ткани мозга в группах с измененным световым режимом изменилась разнонаправленно.

В условиях обычного освещения и ежедневной деятельности клетки активные формы кислорода генерируются постоянно и удаляются митохондриальной и цитоплазматической супероксиддисмутазой с образованием H_2O_2 . В свою очередь перекись водорода разлагается с образованием воды и дисульфидов. Эти реакции катализируются соответствующими пероксидазами: глутатионпероксидазой или тиреопероксидазой. Дисбаланс активностей ферментативных компонентов АОС приводит к дополнительной генерации АФК, что еще больше усугубляет ситуацию и увеличивается активность СОД, что может способствовать пероксидазному разрушению нейронов [61].

Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы снизилась в группах с измененным световым режимом по сравнению с активностью фермента в группе обычное освещение. Возможно, это связано с недостаточностью кофермента НАДФ⁺ вследствие нарушения окислительно-восстановительного потенциала клетки при световом десинхронозе.

Регенерация тиоловых соединений происходит в результате восстановления дисульфидов за счет НАДФН⁺, реакция катализируется глутатион-редуктазой. Уровень НАДФН⁺ обеспечивает пентозофосфатный цикл и изоцитратдегидрогеназа цитоплазматическая и митохондриальная изоформы. Пентозный цикл функционирует при достаточной концентрации кислорода в клетке. В условиях гипоксии усиливается анаэробный гликолиз и образование лактата. Увеличение концентрации молочной кислоты активирует ферменты, катализирующие распад пуриновых нуклеотидов. Дефицит глюкозы тормозит гексозомонофосфатный путь, что приводит к снижению выработки пентозо-5фосфатов, необходимых для реутилизации пуриновых оснований. Таким образом, условия гипоксии приводят к снижению регенерации НАДФН⁺, необходимого для активности глутатион-редуктазы. Концентрация ВГ при изменении светового режима достоверно не изменилась через

1 месяц исследования. Это может свидетельствовать в пользу использования сульфгидрильных групп белков, что приводит к подавлению их активности. Восстановленный глутатион принимает участие в редокс-зависимых процессах и в регуляции клеточного редокс-зависимого сигналинга, транскрипционным фактором, является косубстратом в реакциях детоксикации пероксидов, катализируемых глутатионпероксидазой и глутатионтрансферазой. Благодаря этим двум ферментам в комплексе ВГ экранируют атомы железа от возможности взаимодействия с окислителями, в частности H_2O_2 . Сохранение оптимального соотношения восстановленного глутатиона к окисленному является важным условием жизнеспособности клетки [61].

Через 3 месяца исследования также не выявлено значимого изменения концентрации ВГ. В группах с измененным световым режимом, по-прежнему, наблюдали снижение активности Г-6-ФДГ по сравнению с показателями группы обычное освещение. Активность СОД в гомогенате ткани мозга животных, находящихся в условиях постоянное освещение, достоверно понизилась на 32,3% по сравнению с показателями группы обычное освещение. Напротив, активность фермента глутатионпероксидазы достоверно повысилась. Наблюдающийся дисбаланс активности СОД и ГП является причиной изменения содержания H_2O_2 , нарушения метаболизма биогенных аминов, что может привести к нарушению межмедиаторного обмена в нейронах [61; 69]. Активность ГТ в гомогенате ткани мозга животных из обеих групп с измененным световым режимом значимо снизилась через 3 месяца исследований. Глутатион-S-трансфераза катализирует реакции конъюгации глутатиона с неполярными соединениями экзогенного и эндогенного происхождения, что особенно важно при защите клетки от токсических действий этих соединений. Различные изоферменты ГТ обнаружены в различных органах и тканях млекопитающих. На долю цитозольной фракции приходится до 90% от всего количества фермента в клетке. К основным функциям ГТ, кроме детоксикации, относится участие в АОС, благодаря катализу реакции восстановления органических гидроперекисей до спиртов, используя ВГ как косубстрат [61]. В данном случае, снижение активности этого фермента при световом десинхронозе будет способствовать нарастанию липидной пероксидации, о чем свидетельствует, достоверное изменение концентраций ДК и МДА. Изменение липидного состава клеток влияет на их проницаемость, на процессы энергетического обмена, на скорость синтеза белка, что, в конечном счете, нарушает функционирования клеток нервной системы.

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима концентрация ДК в гомогенате головного мозга в группе «постоянное освещение» достоверно повышается на 4,7%, а в группе «постоянная темнота» снижается на 9,4% ($p \leq 0,05$) по сравнению с аналогичным показателем в группе обычное освещение. Изменения идентичны изменениям без воздействия «окислительного» фактора при изменении светового режима.

Увеличение активности СОД и снижение активности ГТ и Г-6-ФДГ в группах с измененным световым режимом способствует увеличению внутриклеточной концентрации H_2O_2 . Появление избыточного количества H_2O_2 изменяет активность фермента супероксиддисмутазы. В обычных условиях активность СОД очень высокая, 106 об/с, что соответственно стабилизирует баланс АФК и образование перекиси водорода и кислорода.

В результате двухфакторного дисперсионного анализа выявлено, что вклад фактора А («усиление окислительного давления») при постоянном освещении через 1 месяц проявился в активности ферментов ГТ (ФД=0,308) и ГП (ФД=0,152), но наиболее весомое влияние оказало на концентрацию МДА в ткани мозга (ФД=0,726). Вклад фактора В (освещение) также проявился на концентрации ДК (ФД=0,424), и в активности ГТ (ФД=0,423), СОД (ФД=0,543), ГП (ФД=0,409). Самый большой эффект изменение светового режима после «усиления окислительного давления» оказало на активность Г-6-ФДГ (ФД=0,728) (Таблица 19).

Таблица 19 – Оценка влияния «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,085	0,167	0,030	0,402	0,053	0,272	0,831
МДА	0,726	$8,02 \times 10^{-8*}$	0,005	0,512	0,053	0,039*	0,216
ДК	0,029	0,309	0,424	0,001*	0,016	0,443	0,531
ГТ	0,399	$1,160 \times 10^{-8*}$	0,423	$7,61 \times 10^{-7*}$	0,009	0,320	0,169
Г-6-ФДГ	0,003	0,629	0,728	$5,147 \times 10^{-8*}$	0,064	0,021*	0,205
СОД	0,052	0,122	0,543	$4,26 \times 10^{-5*}$	0,004	0,649	0,401
ГП	0,152	0,016*	0,409	0,001*	0,006	0,593	0,433
ГР	0,041	0,351	0,025	0,461	0,038	0,371	0,896
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Вклад фактора А («усиление окислительного давления») в эффект последствий при постоянной темноте через 1 месяц проявился в активности ферментов ГТ (ФД=0,331) и СОД (ФД=0,132), но наиболее весомое влияние оказало на концентрацию МДА в ткани мозга (ФД=0,639). Вклад фактора В (освещение) значительно проявился на концентрации ДК (ФД=0,819), в активности Г-6-ФДГ (ФД=0,659), СОД (ФД=0,632), ГП (ФД=0,586), ГТ

(ФД=0,481). Эффект от изменения светового режима после «усиления окислительного давления» на концентрацию ВГ в тканях оказался значительно меньше (ФД=0,183) (Таблица 20).

Таблица 20 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случа й ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,016	0,526	0,183	0,041*	0,034	0,355	0,767
МДА	0,639	$4,57 \times 10^{-6*}$	$4,68 \times 10^{-5}$	0,958	0,029	0,202	0,332
ДК	0,075	0,001*	0,819	$7,51 \times 10^{-4*}$	0,001	0,805	0,106
ГТ	0,331	$8,6 \times 10^{-6*}$	0,481	$6,4 \times 10^{-7*}$	$4,46 \times 10^{-6}$	0,983	0,189
Г-6-ФДГ	0,006	0,494	0,659	$4,42 \times 10^{-7*}$	0,089	0,014*	0,246
СОД	0,132	0,001*	0,632	$4,45 \times 10^{-8*}$	0,061	0,015*	0,175
ГП	0,001	0,909	0,586	$4,82 \times 10^{-6*}$	0,107	0,016*	0,306
ГР	0,035	0,393	0,005	0,758	0,031	0,420	0,929

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При сопоставлении значений коэффициентов детерминации между группами через 1 месяц эксперимента (Таблицы 19 и 20) наиболее выраженное взаимодействие в тканях мозга на показателях АОС и ПОЛ проявился существенно ниже, чем вклад каждого фактора по отдельности. Полученные данные свидетельствуют, что при усилении «окислительного давления» клетки центральной нервной системы в условиях светового десинхроноза в течение 1 месяца реагируют путем усиления пероксидации мембранных фосфолипидов, что приводит к увеличению МДА, к значительному усилению активности Г-6-ФДГ для использования потенциала НАД(Ф)⁺/НАД(Ф)Н⁺ редокс пары. Через 3 месяца эксперимента (Таблицы 21 и 22) вклад фактора А («усиление окислительного давления») при постоянном освещении проявился в активности ферментов ГП (ФД=0,621) и ГТ (ФД=0,369). Значительно проявился оказанный эффект на концентрации МДА в ткани мозга (ФД=0,433). Вклад фактора В (освещение) значительно проявился на активности Г-6-ФДГ (ФД=0,739), СОД (ФД=0,497), ГТ (ФД=0,376). Выявлен эффект от изменения светового режима при «усилении окислительного давления» на концентрацию ДК в тканях мозга (ФД=0,436).

Таблица 21 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,343	0,003	0,0012	0,849	0,032	0,321	0,624
МДА	0,433	$2,41 \times 10^{-5*}$	0,0223	0,229	0,255	0,001*	0,290
ДК	0,051	0,145	0,436	0,001*	0,066	0,101	0,447
ГТ	0,369	$9,19 \times 10^{-7*}$	0,376	$8,04 \times 10^{-7*}$	0,103	0,001*	0,152
Г-6-ФДГ	0,032	0,107	0,739	$1,05 \times 10^{-7*}$	$3,08 \times 10^{-5}$	0,959	0,228
СОД	0,010	0,523	0,497	0,001*	0,001	0,879	0,492
ГП	0,621	$3,32 \times 10^{-6*}$	0,0419	0,114	0,030	0,177	0,307
ГР	0,138	0,081	0,0333	0,378	0,009	0,643	0,819

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Таблица 22 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А Отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,246	0,018*	$1,93 \times 10^{-5}$	0,982	0,011	0,590	0,742
МДА	0,224	0,001*	0,001	0,841	0,461	$2,71 \times 10^{-5*}$	0,315
ДК	0,036	0,299	0,209	0,018	0,120	0,066	0,634
ГТ	0,277	0,001*	0,059	0,044	0,408	$1,57 \times 10^{-5*}$	0,256
Г-6-ФДГ	0,055	0,050*	0,689	$4,21 \times 10^{-7*}$	0,001	0,882	0,255
СОД	0,144	0,067	0,018	0,502	0,069	0,193	0,769
ГП	0,070	0,039	0,639	$1,74 \times 10^{-6*}$	0,002	0,708	0,288
ГР	0,167	0,049	0,069	0,194	0,0037	0,759	0,760

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При постоянной темноте через 3 месяца вклад фактора А («усиление окислительного давления») проявился в активности фермента ГТ (ФД=0,277). Примерно одинаковое влияние «усиление окислительного давления» оказало на показатели ВГ (ФД=0,246) и МДА (ФД=0,224).

Вклад фактора В (освещение) значительно проявился на активности Г-6-ФДГ ($\Phi Д=0,689$) и ГП ($\Phi Д=0,639$). Эффект взаимодействия двух факторов значительно проявился при постоянной темноте на показателе МДА ($\Phi Д=0,491$) и на активности ГТ ($\Phi Д=0,408$).

Оценка аддитивности (Таблица 23) выявленных показателей взаимодействия двух независимых патологических процессов в тканях головного мозга крыс при их одновременном моделировании подтверждает усиление показателя перекисного окисления липидов – уровня МДА, в условиях постоянного освещения через один месяц после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50. Отчетливое потенцирующее действие этих условий выявлено для показателей активности антиоксидантной защиты СОД и ГП при постоянной темноте в течение 1 месяца, при этом игнорируется фактор отравления (извращенная реакция). Наблюдается также усиление воздействия для показателя активности фермента Г-6-ФДГ при игнорировании фактора отравления, как в условиях постоянного освещения, так и в условиях постоянной темноты.

Через 3 месяца моделирования светового десинхроноза после «усиления окислительного давления» выявлено потенцирование по показателям МДА и ГТ.

Таким образом, выявленная двухсторонняя взаимосвязь между ритмической активностью клеточных окислительно-восстановительных осцилляторов и изменением концентрации окислителей в результате сочетанного действия токсиканта и светового десинхроноза в тканях головного мозга, обуславливает ритмичное протекание процессов, формирует своеобразные биоэнергетические потоки, необходимые для запуска, поддержания, и упорядочивания разнообразных биохимических и физиологических процессов. Условия окислительного давления способствуют усилению роли АФК как триггеров колебательных процессов в клетке, изменению чувствительности биосистемы при действии внешних факторов среды, тем самым нарушается гомеостатическая мощность системы. Поэтому обоснована необходимость фармакологического воздействия для предотвращения негативных последствий в энергетическом обмене, в развитии когнитивных навыков, в адаптации к изменениям внешней среды.

Таблица 23 – Оценка аддитивности взаимодействия исследуемых процессов АОС в тканях головного мозга крыс (тиопентал натрия, 1 мес, 3 мес)

Постоянное освещение					Постоянная темнота					
1 месяц светового десинхрониза после острого отравления тиопентал натрия в дозе LD50										
Показатель, ед.измерения	Влияние фактора			Сумма эффектов А+В	ИА, оценка взаимодействия	Влияние фактора			Сумма эффекто в А+В	ИА, оценка взаимодействия
	А отравл ление	В освещ ение	А*В			А отравл ение	В освещ ение	А*В		
МДА, U/gP	+36,3	+30,7	+53,8	+67,0	0,8 частичный антагонизм					
Г-6-ФДГ, U/gP	+5,8	-16,9	-25,4	-11,1	игнорирование фактора А	+5,8	-13,3	-23,1	-7,5	игнорирование фактора А
СОД, U/gP						-5,3	+26,2	+16,6	+20,9	игнорирование фактора А
ГП, U/gP						+0,15	-0,20	-0,36	-0,05	игнорирование фактора А
3 месяца светового десинхрониза после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50										
МДА, U/gP	+51,8	+15,8	+22,7	+67,6	0,34 частичный антагонизм	+51,8	+29,4	+20,2	+81,2	0,25 частичный антагонизм
ГТ, U/gP	-87,2	-87,7	-114,6	-174,9	0,65 частичный антагонизм	-87,2	-66,0	-57,5	-153,2	0,38 частичный антагонизм

4.3 Изучение показателей энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

4.3.1 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови животных через 1 месяц после изменения светового режима.

Через 1 месяц после пребывания животных в условиях измененного светового режима в активность креатинкиназы в тканях головного мозга крыс в группе «постоянное освещение» достоверно повысилась на 27,1%, в группе «постоянная темнота» – на 26,2 % по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 24). Активность ЛДГ, напротив, достоверно снижается в группе «постоянное освещение» на 33,0 %, в группе «постоянная темнота» – на 18,8 % по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

Таблица 24 – Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и гипоксия-индуцибельного фактора в плазме крови крыс через 1 месяц после изменения светового режима

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	251,4±6,5	319,7±24,4*	317,2±27,1*
Лактатдегидрогеназа Ед. акт./г белка	20,0±0,4	13,4±2,3*	16,2±1,5*
Na ⁺ , K ⁺ - АТФаза мкмоль Pi/ мг белка в час	4,22±0,56	4,70±0,31	7,02±0,37*
НIF1 α , нг/мл	0,178±0,006	0,206±0,003*	0,201±0,005*

* – достоверно в сравнении с группой обычное освещение (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Активность Na⁺, K⁺-АТФазы достоверно увеличивается только в группе «постоянная темнота» на 66,3 % по сравнению с группой обычное освещение. Концентрация НIF1 α в плазме крови достоверно увеличилась в группе «постоянное освещение» на 15,7%, в группе «постоянная темнота» – на 17,9 % по сравнению с группой «обычное освещение».

Выявленные изменения показателей энергетического обмена свидетельствуют о дефиците кислорода в тканях головного мозга при изменении светового режима. Достоверное увеличение общей активности креатинкиназы, достоверное увеличение концентрации в плазме крови гипоксией индуцибельного фактора, вызванные дефицитом кислорода, активируют

компенсаторные реакции со стороны энергообеспечивающих систем. Так, при недостатке кислорода активируются так называемые «фосфорильные провода» через креатинкиназную и аденилаткиназную реакции. В результате обеспечивается быстрая доставка макроэргов от места их образования до места их потребления. Снижение активности ЛДГ объясняется необходимостью цитозольного НАД⁺, основные количества которого можно получить только при активно работающей электронтранспортной цепи в условиях достаточного количества кислорода [101].

4.3.2 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови через 3 месяца после изменения светового режима.

Через 3 месяца изменения светового режима активность креатинкиназы в тканях головного мозга крыс в группе «постоянное освещение» достоверно снижается на 34,7%, а ЛДГ – 54,0% по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 25). Активность Na⁺,K⁺ - АТФазы достоверно увеличивается в группе «постоянное освещение» на 54,5 %, а в группе «постоянная темнота» – в 2,6 раза по сравнению с группой «обычное освещение». Концентрация HIF1 α в плазме крови достоверно увеличилась в группе «постоянное освещение» на 17,4 %, в группе «постоянная темнота» – на 25,6 % по сравнению с группой «обычное освещение».

Таблица 25 – Изменение концентрации показателей энергетического обмена в ткани головного мозга и гипоксия-индуцибельного фактора в плазме крови крыс через 3 месяца при обычном освещении и изменения светового режима

Показатели (M \pm m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	273,1 \pm 7,2	178,4 \pm 7,4*	263, 9 \pm 13,7
Лактатдегидрогеназа Ед.акт./г белка	19,5 \pm 1,9	8,9 \pm 2,2*	22,8 \pm 2,2
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза мкмоль Pi/ мг белка в час	6,6 \pm 0,3	10,2 \pm 0,4*	17,4 \pm 0,8*
HIF1 α , нг/мл	0,183 \pm 0,005	0,215 \pm 0,005*	0,230 \pm 0,007*

* – достоверно в сравнении с группой обычное освещение (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Через 3 месяца после изменения светового режима, выявленные данные свидетельствуют

о прогрессе дефицита кислорода в тканях головного мозга, особенно, при постоянной темноте. Об этом свидетельствует увеличение концентрации $\text{HIF1}\alpha$ на 43,0% по сравнению с показателем через 1 месяц эксперимента. Но компенсация недостатка кислорода не приводит к увеличению общей активности креатинкиназы, а даже, напротив, к достоверному снижению ее активности в группе постоянное освещение. Одним из вариантов компенсации возможна активация обратного течения реакций цикла Кребса в системе «малат-фумарат-сукцинат» с выработкой АТФ. Увеличение активности Na^+, K^+ - АТФазы с целью синтеза АТФ за счет энергии, высвобождаемой при переносе ионов натрия и калия по градиенту электрохимического потенциала [279].

4.3.3 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

В результате проведенного исследования установлено, что через 1 месяц после «усиления окислительного давления» активность креатинкиназы в гомогенате тканей мозга в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» увеличилась на 12,7% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$) (Таблица 26). Активность ЛДГ в этой группе животных достоверно повысилась на 16,9% по сравнению с группой «обычное освещение». Концентрация $\text{HIF1}\alpha$ в плазме крови достоверно увеличилась после отравления на 37,6% по сравнению с группой «обычное освещение». Через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия и изменения светового режима активность креатинкиназы в тканях головного мозга крыс достоверно повысилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 41,3%, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» – на 21,9% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и, соответственно, на 59,3% и 37,4% по сравнению с группой «обычное освещение». Активность ЛДГ в группах отравленных животных с измененным световым режимом снизилась до уровня группы «обычное освещение». Активность Na^+, K^+ - АТФазы достоверно увеличилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 38,1 %, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» в 2,3 раза по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Концентрация $\text{HIF1}\alpha$ в группах «постоянное освещение+ тиопентал натрия» и «постоянная темнота+ тиопентал натрия» увеличилась на 31,0% и на 11,0% по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение+ тиопентал натрия», на 80,3% и на 52,8% по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

Таблица 26 – Показатели энергетического обмена через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	251,4±6,5	283,6±6,2*	400,6±27,5*#	345,4±21,1*#
Лактатдегидрогеназа Ед. акт./г белка	20,0±0,4	23,4±0,4*	19,9±2,0	23,3±2,3
Na ⁺ , K ⁺ - АТФаза мкмольРi/мг белка в час	4,22±0,56	3,75±0,39	5,18±0,24#	8,50±0,30#
НIF1α, нг/мл	0,178±0,006	0,245±0,005*	0,321±0,025*#	0,272±0,006*#
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни (p ≤ 0,05); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни (p ≤ 0,05)				

Через 1 месяц в условиях измененного светового режима при «усилении окислительного давления» дефицит кислорода в тканях головного мозга компенсируется достоверным увеличением общей активности креатинкиназы. Наибольшее увеличение наблюдается «окислительного давления» при постоянном освещении. Значительное увеличение активности Na⁺, K⁺ - АТФазы произошло, напротив, в условиях постоянной темноты.

4.3.4 Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Проведенное исследование показало, что через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия активность креатинкиназы в гомогенате тканей мозга в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» увеличилась на 37,3% по сравнению с группой «обычное освещение» (p ≤ 0,05) (Таблица 27). Активность ЛДГ в данной группе экспериментальных животных достоверно повысилась на 54,0%, а активность Na⁺, K⁺-АТФазы достоверно снизилась на 9,1% по сравнению с группой «обычное освещение». Концентрация НIF1α в плазме крови группы «обычное освещение+тиопентал натрия» достоверно увеличилась после отравления на 24,5% по сравнению с группой «обычное освещение». Через 3 месяца после «окислительного давления» и изменения светового режима активность креатинкиназы в тканях головного мозга крыс достоверно понизилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 41,0% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 19,0% по сравнению с группой «обычное освещение». Также в данной группе достоверно снизилась

активность ЛДГ на 40,6 % по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия», наоборот, достоверно повысилась на 29,9 % по сравнению с группой «обычное освещение». Активность Na^+, K^+ -АТФазы в группах «постоянное освещение+тиопентал натрия» и «постоянная темнота+ тиопентал натрия» увеличилась в 1,8 раза и в 3,0 раза по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение+тиопентал натрия», в 1,7 раза и в 2,8 раза по сравнению с аналогичными показателями в группе «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Концентрация HIF1 α в группах отравленных животных с измененным световым режимом продолжала оставаться повышенной по сравнению с группой «обычное освещение» на 20,2% (постоянное освещение, на 11,5% (постоянная темнота) ($p \leq 0,05$).

Таблица 27 – Показатели энергетического обмена через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	273,1 \pm 7,2	375,5 \pm 10,1*	221,1 \pm 8,9*#	394,5 \pm 41,4
Лактатдегидрогеназа Ед.акт./г белка	19,5 \pm 1,9	30,3 \pm 2,6*	17,9 \pm 2,1#	39,3 \pm 5,5*
Na^+, K^+ - АТФаза мкмоль Рi /мг белка в час	6,6 \pm 0,3	6,0 \pm 0,1*	11,0 \pm 0,5*#	18,2 \pm 0,5*#
HIF1 α , нг/мл	0,183 \pm 0,005	0,228 \pm 0,007*	0,220 \pm 0,002*	0,204 \pm 0,009*#
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)				

Выявленные изменения энергетического обмена в условиях оксидативного стресса через 3 месяца после «усиления окислительного давления» у животных, проживающих в условиях измененного светового режима, свидетельствуют об истощении ресурсов клеток для поддержания полноценной активности ферментов энергетического обмена на уровне группы обычное освещение. Активность Na^+, K^+ - АТФазы продолжает оставаться на высоком уровне. Возможно влияние данного фермента за счет изменения своей активности на контроль ритмов клетки через баланс одновалентных катионов, через активацию образования АФК.

Таким образом, при «усилении окислительного давления» и изменении светового режима через 3 месяца наблюдается истощение энергетических резервов клетки и тем самым

активируются «нетрадиционные» источники энергии, а именно, изменение градиента электрохимического потенциала одновалентных катионов.

Анализ полученных данных дисперсионным двухфакторным анализом выявил значительный вклад фактора А («усиление окислительного давления») при постоянном освещении через 1 месяц проявился в концентрации фактора HIF1 α в плазме крови животных (ФД=0,553) (Таблица 28). Вклад фактора В (освещение) значительно проявился в общей активности КК в тканях головного мозга (ФД=0,439). Менее существенен вклад ферментов ЛДГ (ФД=0,266) и Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,218)

Таблица 28 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиление окислительного давления» и постоянного освещения на показатели энергетического обмена через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А		Фактор В		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	0,163	0,007*	0,439	8,76 $\times 10^{-5}$ *	0,030	0,213	0,366
ЛДГ, Ед.акт./г белка	0,233	0,005*	0,266	0,003*	0,020	0,364	0,479
Na ⁺ ,K ⁺ -АТФаза, мкмольРi /мг белка	1,035 $\times 10^{-6}$	0,995	0,218	0,023*	0,053	0,239	0,727
HIF1 α , нг/мл	0,553	8,850 $\times 10^{-7}$ *	0,180	0,001*	0,039	0,076	0,226
* – достоверность $p \leq 0,05$							

При световом режиме постоянная темнота вклад фактора А («усиление окислительного давления») через 1 месяц значительно проявился в концентрации фактора HIF1 α в плазме крови животных (ФД=0,795) и в активности фермента ЛДГ в ткани головного мозга (ФД=0,375). Вклад фактора В (освещение) в тканях головного мозга значительно проявился в активности Na⁺,K⁺-АТФазы (ФД=0,751), КК (ФД=0,360). Менее существенен вклад фактора HIF1 α в плазме крови (ФД=0,106) (Таблица 29). Эффект взаимодействия двух факторов при двух разных режимах освещения не проявился.

Таблица 29 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели энергетического обмена через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	0,080	0,104	0,360	0,001*	0,001	0,911	0,558
ЛДГ, Ед.акт./г белка	0,375	0,001*	0,050	0,183	0,046	0,198	0,528
Na ⁺ ,K ⁺ АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	0,013	0,238	0,751	1,67×10 ⁻⁸ *	0,050	0,029*	0,183
НIF1α, нг/мл	0,795	4,095×10 ⁻¹¹ *	0,106	0,0001*	0,001	0,703	0,096
* – достоверность при p < 0,05							

При световом режиме постоянное освещение вклад фактора А («усиления окислительного давления») через 3 месяца значительно проявился в концентрации фактора НIF1α в плазме крови животных (ФД=0,434) и в активности ферментов ЛДГ (ФД=0,299) и КК (ФД=0,227) в ткани головного мозга. Вклад фактора В (освещение) в тканях головного мозга значительно проявился в активности Na⁺,K⁺ АТФаза (ФД=0,833), КК (ФД=0,671), ЛДГ (ФД=0,396). Менее существенен вклад фактора НIF1α в плазме крови (ФД=0,128) (Таблица 30).

Таблица 30 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели энергетического обмена через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	0,227	4,08×10 ⁻⁸ *	0,671	3,55×10 ⁻¹² *	0,038	0,002*	0,062
Лактатдегидрогеназа, Ед.акт./г	0,299	0,0002*	0,396	5,11×10 ⁻⁵ *	0,002	0,692	0,301
Na ⁺ ,K ⁺ АТФаза, мкмольРi /мг	0,001	0,807	0,833	7,99×10 ⁻¹⁰ *	0,024	0,079	0,141
НIF1α, нг/мл	0,434	9,42×10 ⁻⁵ *	0,128	0,009*	0,128	0,009*	0,308
* – достоверность при p ≤ 0,05							

При постоянной темноте вклад фактора А («усиление окислительного давления») через 3 месяца значительно проявился в активности ферментов ЛДГ (ФД=0,494) и КК (ФД=0,564) в ткани головного мозга. Вклад фактора В (освещение) в тканях головного мозга значительно проявился в активности Na^+, K^+ -АТФаза (ФД=0,956) (Таблица 31). Через 3 месяца исследования после однократного отравления тиопенталом натрия в разных режимах освещения эффект взаимодействия двух факторов проявился на показателе НIF 1 α , причем в режиме постоянная темнота значительно больше (ФД = 0,495).

Таблица 31 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели энергетического обмена через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	0,564	$4,9 \times 10^{-5}$ *	0,001	0,830	0,008	0,541	0,426
Лактатдегидроге наза, Ед.акт./г белка	0,494	0,001*	0,026	0,280	0,054	0,126	0,425
Na^+, K^+ -АТФаза, мкмоль Рi /мг белка в час	$1,2 \times 10^{-5}$	0,940	0,956	$1,9 \times 10^{-15}$ *	0,003	0,212	0,039
НIF1 α , нг/мл	0,036	0,201	0,047	0,149	0,495	$9,59 \times 10^{-5}$ *	0,420
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, двухфакторный дисперсионный анализ показал, что эффект от изменения режима освещения и «усиления окислительного давления» примерно одинаково проявляется на показателях энергетического обмена. Через 1 месяц изменения режима освещения вклад в развитие последствий такого воздействия вносит фактор НIF1 α . Через 3 месяца в развитие последствий окислительного давления в условиях продолжающегося светового десинхроноза определяющим становится активность ферментов КК, Na^+, K^+ -АТФазы и ЛДГ. Все изменения связаны с дефицитом кислорода в клетках, связанного с нарушением баланса в тиоловой буферной системе, увеличением концентрации продуктов ПОЛ (электрофилов), что нарушает устойчивость клетки к стрессовому воздействию.

4.3.5 Обсуждение результатов исследования показателей энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Циркадные часы регулируют суточные ритмы многих физиологических, поведенческих и молекулярных процессов, предоставляя средства для прогнозирования изменений окружающей среды и адаптации к ним. Молекулярные часы координируют транскрипционно-трансляционные петли обратной связи, которые управляют ежедневными колебаниями экспрессии многих генов, участвующих в реализации клеточных функций. Основными компонентами этого механизма являются белки часовых генов - регуляторы транскрипции. Внутри положительной петли гетеродимер CLOCK/ BMAL1 ритмически связывается с E-box в регуляторных областях генома, тем самым вызывая архитектурные изменения в состояниях хроматина, способствуя транскрипции часовых белков Period (Per1-3) и Cryptochrome Cry1-2 [160]. Белки PER и CRY соответствуют репрессорному комплексу, который противодействует активации транскрипции, управляемой CLOCK/BMAL1. Белки часовых генов относятся к семейству белков, содержащих домены bHLH и PAS мотивом. Домен PAS активируется светом, гемом, кислородом, угарным газом, оксидом азота, стероидами, регуляторными пептидами. Домены PAS идентифицированы в семействе потенциал-активируемых калиевых каналах, которые воспринимают изменения в окислительно-восстановительном потенциале клетки, тем самым регулируется деятельность канала [160; 175]. Кислород-чувствительные ионные каналы участвуют в быстрой реакции клетки на гипоксию. Например, у млекопитающих такая чувствительность проявляется артериальными хеморецепторами в каротидных тельцах. Таким образом, механизм, основанный на окислительно-восстановительном потенциале, является промежуточным звеном в зондировании кислорода ионными каналами [279].

Домен PAS имеют также транскрипционный фактор, индуцированный гипоксией, гетеродимерный белок HIF1 (α и β), основной функцией которого является системный ответ клетки на изменение уровня кислорода. Этот белок также является сенсором концентрации кислорода в клетке. Благодаря системному ответу клетка «предпринимает» определенные меры по защите запасов энергии и репрограммировании дыхательной цепи для оптимизации получения энергии задолго до того, как произойдет падение концентрации АТФ, что способствует сохранению жизнеспособности клеток и их жизнедеятельности. Белки, имеющие PAS домен, склонны к белок-белковым взаимодействиям, что является универсальным компонентом внутриклеточной сигнализации [102]. Гетеродимеры транслицируются в ядро клетки, активируют через механизмы модификации гистонов транскрипцию генов, имеющих один или несколько E – box *cis*-компонентов с канонической последовательностью нуклеотидов

CACGTG. Так взаимодействуют между собой белки часовых генов, поддерживающие циркадную ритмичность на уровне клетки и белки, поддерживающие энергетический метаболизм. Таким образом, индуцированная гипоксией сигнализация, предполагает участие молекулярных часов в адаптации к потокам питательных веществ и кислороду. Одновременно, нарушение циркадной ритмичности может вызвать состояние гипоксии, так как экспрессия генов – мишеней HIF1 α (*Glut1*, *Vegfa*, *Epo*, *Egln1-3*) регулируется циркадными ритмами через E-box в промоторе гена HIF1 α , который контролируется CLOCK\BMAL1, HIF1 α увеличивает экспрессию гена *per2*, что способствует нарушению ритмичности. Следствием гипоксии являются нарушения процессов энергообмена в тканях. Наиболее чувствительны к гипоксии интенсивно работающие ткани и системы, такие как нервная, иммунная, эндокринная. Эти ткани и системы постоянно синтезируют значительное количество веществ – медиаторов, гормонов, специфических белков, модуляторов, ответственных за многообразные процессы в регулируемых ими клетках, тканях, органах. Поэтому изменения в энергетическом обеспечении в этих тканях и системах приводят к патологическим сдвигам. Степень и скорость этих нарушений определяются интенсивностью неблагоприятного воздействия, но также зависят от энергетических ресурсов этих систем. В большинстве экстремальных ситуаций имеет место смешанный тип гипоксии. Гипоксия усиливает отрицательное действие других неблагоприятных факторов [102; 545].

В проведенном нами исследовании подтвердилась гипотеза, что существует двунаправленная взаимосвязь между циркадианными ритмами и клеточным метаболизмом, в частности, через сенсоры гипоксии, окислительно-восстановительный баланс в клетке. При гипоксическом режиме наблюдается активация окислительных процессов, увеличение содержания гидроперекисей, диеновых конъюгатов, малонового диальдегида, активация ферментного звена антиоксидантной защиты клетки, так как нарушается ритм синтеза субстратов и ферментов антиоксидантной защиты, что дестабилизирует окислительно-восстановительный баланс клетки и нарушает циркадианную регуляцию гипоксического ответа клетки. Данные изменения отражаются на энергетическом обмене клетки [69; 73; 99].

На перекрестке клеточного метаболизма находятся митохондрии, где за счет процессов окислительного фосфорилирования синтезируется АТФ. Решающее значение для поддержания энергетического баланса играет молекулы восстановленного НАДН⁺ и АДФ. Последние данные показывают, что уровни НАД⁺ колеблются с 24-часовым ритмом, то есть управляются циркадианными ритмами. Часовые белки CLOCK\BMAL1 регулируют экспрессию ключевого фермента энергетического обмена NAMPT (никотинамидфосфорибозилтрансфераза), который катализирует реакцию биосинтеза НАД⁺ из никотинамида [196; 264; 278]. При снижении энергетического обмена этот фермент увеличивает скорость образования НАД⁺, который на

определенной фазе циркадианного ритма приводит к активации НАД⁺-зависимой гистоновой деацетилазы SIRT-1 (silent information regulator, sirtuin 1), а также НАД⁺-АДФ-рибозилтрансферазы 1. SIRT-1 деацетилирует часовые белки, PGC-1 α (коактиватор γ -рецептора, активируемого пролифератором пероксисом, PPAR γ). Это приводит к ослаблению свойств гистоновой ацетилтрансферазы белка CLOCK, ослаблению взаимодействия белков в димере CLOCK\BMAL1 и снижением сродства к E-box, а деацетилированный белок PER2 подвергается убиквитинированию, протеасомной деградации, что снижает его репрессорное действие на транскрипционную активность димера CLOCK\BMAL1 [418; 419; 475].

Полученные результаты демонстрируют, что через 1 месяц пребывания животных в условиях светового десинхроноза индуцируется синтез HIF1 α , примерно в одинаковой степени в условиях постоянного освещения и в условиях постоянной темноты. Исходя из выше сказанного, можно предположить, что в результате увеличивается экспрессия часового белка PER2, что нарушает циркадную ритмичность пополнения пула НАД⁺ для синтеза АТФ. Одним из поставщиков восстановленного НАДН⁺ является гликолиз. При гипоксии активируется лактатдегидрогеназная реакция в тканях головного мозга, и пируват восстанавливается до лактата, при этом восстановленный НАДН⁺ окисляется и превращается в НАД⁺. Таким образом, стимулируются реакции субстратного фосфорилирования синтеза АТФ. Известно, что окислительно-восстановительное состояние определяет уровень транскрипции гена лактатдегидрогеназы, через активацию E-box путем связывания гетеродимера BMAL1\NPAS2 (паролог CLOCK в мозге млекопитающих) [418; 419]. В случае нарушения светового режима циркадная ритмичность синтеза de novo НАД⁺ и экспрессия фермента ЛДГ нарушена. В нашем исследовании активность ЛДГ снижается на 33,0% в условиях постоянного освещения и на 18,8% в условиях постоянной темноты. Это свидетельствует о снижении использования лактата в нейронах для поддержания энергетического баланса через 1 месяц светового десинхроноза.

Одновременно выявлено, что увеличивается активность креатинкиназы в головном мозге крыс, в условиях постоянного освещения на 27,1%, в условиях постоянной темноты – на 26,2%. Известно, что система митохондриальной и цитоплазматической креатинкиназы связана с дыхательной цепью и предоставляет необходимое количество АДФ к F1-синтазе для синтеза АТФ [106]. Такую же функцию выполняет фермент гексокиназа. До 70% гексокиназы в головном мозге связано с внешней мембраной митохондрий, что способствует обеспечению АДФ-синтазы необходимым количеством АДФ и связывает активность окисления глюкозы с условиями обеспечения клетки кислородом. Считается также, что гликолиз тесно связан с функционированием циркадианных часов на уровне клетки [256].

На фоне длительной гипоксии концентрация АДФ также имеет решающее значение для оптимизации расходования АТФ. Учитывая, что сродство пируваткиназы (фермент гликолиза)

к АДФ меньше, то увеличение активности креатинкиназы связано еще и с более высоким сродством этого фермента к АДФ [96], что также способствует поддержанию аденилового баланса в клетке и определяет скорость дыхательных процессов.

Фермент Na^+, K^+ -АТФаза в условиях изменения светового режима на постоянную темноту повысил свою активность на 66,3%. Такое существенное повышение активности фермента в условиях гипоксии при нарушении циркадианной ритмичности свидетельствует о влиянии светового режима на активность мембранного фермента. Известно, что Na^+, K^+ -АТФаза обеспечивает превращение энергии гидролиза АТФ в энергию градиентов одновалентных ионов натрия и калия в стехиометрии 1 АТФ: 3 иона натрия: 2 иона калия. Также Na^+, K^+ -насос регулирует внутриклеточное содержание ионов Ca^{2+} за счет «утечки» ионов Na^+ через $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ обменник [262; 530]. Данный фермент является одним из основных «потребителей» внутриклеточного пула АТФ для поддержания ионного градиента. Молекула АТФ является не только субстратом, но и модулятором активности Na^+, K^+ -АТФазы, регулирующим ее сродство к переносимым катионам. Градиент Na^+ используется клетками для транспорта различных метаболитов как в клетку, так и из клетки. С помощью этой регуляции Na^+, K^+ -насос настраивается на текущие нужды клетки. Фермент использует АТФ, синтезированную, как в гликолизе, так и способом окислительного фосфорилирования [532]. Также по данным литературы известно, что одним из механизмов регуляции активности данного фермента является его окислительно-восстановительная модификация, а именно, глутатионилирование. Данный фермент является одной из главных мишеней для АФК в нейроне. В активном состоянии Na^+, K^+ -АТФаза препятствует росту свободных радикалов. В результате оксидативного стресса в структуре фермента может происходить замещение менее резистентной α -субъединицы на более резистентную [34]. Наибольшую метаболическую активность Na^+, K^+ -АТФаза проявляет в дневное время [530].

Таким образом, можно предположить, что увеличение активности Na^+, K^+ -АТФазы в результате светового десинхроноза в течение 1 месяца связано с изменением редокс-потенциала клетки как результата оксидативного стресса. Изменение активности потенциал-зависимых K^+ и Na^+ каналов вследствие гипоксии способствует изменению ритмичности клеточной осцилляции. В комплексе эти нарушения способствуют увеличению активности Na^+, K^+ -АТФазы как одного из ключевых звеньев клеточного сигналинга [34].

В данном исследовании для выявления взаимосвязи между циркадианными ритмами и энергетическим метаболизмом клетки, был использован нейротоксикант тиопентал натрия в дозе LD50, ингибитор первого митохондриального комплекса. В результате развивается гипоксия смешанного типа. Последующее перемещение выживших животных в условия светового десинхроноза способствуют усилению развития гипоксии на фоне отравления,

учитывая циркадную регуляцию гипоксического ответа. Наиболее значимые изменения выявились в группе постоянное освещение, на 55,8% увеличилась концентрация HIF1 α по сравнению с группой неотравленных животных, в этом же режиме освещения. В результате сочетанного воздействия «окислительного давления» и светового десинхроноза резистентность организма к гипоксии формировалась за счет механизмов срочной адаптации, которые включают в себя мобилизацию резервных возможностей дыхательной цепи без дополнительных компенсаторных возможностей, возможно, за счет репрограммирования дыхательной цепи на сукцинатоксидазное окисление [100; 102]. Данные изменения приводят к снижению внутриклеточного уровня АТФ. Изменения в пуле адениннуклеотидов предшествует изменениям других функционально-метаболических параметров, контролирующих жизнедеятельность клетки (активация гликолиза, усиление свободно-радикального окисления, индукция апоптоза) [101]. Образование аддуктов МДА способствует модификации белков клетки, что изменяет их белок-белковое взаимодействие. В результате нарушается метаболизм клеток нервной системы, изменяется липидный состав клеточных мембран, нарушается диффузия кислорода через мембрану клетки. В результате в 2,3 раза увеличилась активность Na⁺,K⁺-АТФазы. Возможно, это связано с усилением степени гипоксии и ее усугубляющего действия на активность фермента в условиях нарушения циркадианных ритмов. Активность креатинкиназы значимо увеличилась в группе постоянное освещение, на 25,3% по сравнению с показателем в группе без отравления за этот же период наблюдений и в этом же режиме освещения. Интересно, что активность ЛДГ не показала достоверных изменений при сочетанном действии фактора отравления и изменения светового режима. Возможно, это связано с последствиями ингибирования первого митохондриального комплекса тиопенталом натрия, где восстановленный НАДН⁺ окисляется. При «усилении окислительного давления» в условиях длительного светового десинхроноза, способствующего гипоксии, возможно, активируется сукцинатдегидрогеназное окисление, где основным поставщиком электронов в электрон-транспортную цепь являются восстановленные флавинадениндинуклеотиды.

Таким образом, последствием «усиления окислительного давления» и изменения светового режима в течение 1 месяца наблюдается гипоксия и как следствие, индукция синтеза HIF1 α , увеличение сродства ключевых энергетических ферментов к АДФ, изменение экспрессии ферментов, необходимых для метаболизма НАД⁺, ФАДН⁺₂, изменение направления реакций цикла Кребса с целью пополнения количества молекул АТФ для адаптации клетки к измененному ритму поступления светового сигнала. Увеличение активности Na⁺,K⁺-АТФазы, возможно, связано с соответствующим транспортом ионов натрия и калия как еще одного источника энергии, который может быть «конвертируем» для нужд клетки [34; 504].

Показано, что развитие системной длительной адаптации к недостатку кислорода

связано не только с увеличением мощности транспортных систем дыхания и кровообращения, а сопровождается одновременным повышением резистентности различных тканей к гипоксии, увеличением способности утилизировать кислород из гипоксической среды. Данные изменения возможны, но в условиях сохранения ритмической организации метаболических реакций. В случае нарушения циркадианных ритмов, как в нашем исследовании, нарушается синхронизация между центральными и периферическими часами. Это приводит к нарушению ритма экспрессии метаболических генов, таких как глюконогенные ферменты в печени, ферменты гликолиза, ферменты антиоксидантной защиты, метаболизма НАД⁺, белок-связывающего регуляторного элемента стерола (SREBP-1c), транспортных белков (GLUT1) и т.д. В результате процессы долгосрочной адаптации к недостатку кислорода нарушены [101].

В результате описанных выше нарушений в эксперименте зафиксировано через 3 месяца светового десинхроноза и соответственно длительной гипоксии значимое увеличение активности фермента Na⁺,K⁺-АТФазы в обеих группах с измененным световым режимом. Наибольшее увеличение выявлено в группе постоянная темнота, в 2,6 раза по сравнению с группой обычное освещение. Это подтверждает роль фермента в поддержании не только энергетического баланса клетки при гипоксии, но и в выполнении сигнальной функции. При этом достоверно снижается активность фермента креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в группе постоянная темнота. Произошедшие изменения свидетельствуют о нарастании критических изменений в энергетическом метаболизме клетки в условиях длительного светового десинхроноза.

В группе постоянное освещение наблюдается достоверное увеличение активности фермента креатинкиназы, на 23,9% по сравнению со значением этого показателя в группе постоянное освещение неотравленных животных за этот же период наблюдений. Но активность фермента креатинкиназы достоверно снижается на 41,0% в группе постоянное освещение отравленных животных по сравнению с активностью фермента в группе обычное освещение также отравленных животных. Активность ЛДГ достоверно увеличилась в 2 раза по сравнению со значением этого показателя в группе постоянное освещение неотравленных животных за этот же период наблюдений. Активность ЛДГ достоверно снизилась на 40,6% в группе постоянное освещение отравленных животных по сравнению с активностью фермента в группе обычное освещение также отравленных животных.

В группе постоянная темнота наблюдается достоверное увеличение активности фермента креатинкиназы, на 49,8% по сравнению со значением этого показателя в группе постоянная темнота неотравленных животных за этот же период наблюдений. Активность ЛДГ достоверно увеличилась в 2 раза по сравнению со значением этого показателя в группе постоянное освещение неотравленных животных за этот же период наблюдений. Активность

ЛДГ достоверно увеличилась на 29,9% в группе постоянная темнота отравленных животных по сравнению с активностью фермента в группе обычное освещение также отравленных животных. Полученные результаты свидетельствует о снижении резистентности организма животных к гипоксии и нарушению процессов долгосрочной адаптации к недостатку кислорода в результате изменения циркадианной ритмики.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что при сочетанном воздействии двух факторов на показатели энергетического обмена существенное влияние оказывает как изменение светового режима, так и последствия «усиления окислительного давления».

Сопоставление значений коэффициентов детерминации между группами, показало, что контролируемые факторы («усиление окислительного давления» и изменение светового режима) вносят значимый вклад в реакцию ферментов энергетического обмена на сочетанное действие двух факторов. Через 1 месяц светового десинхроноза основным ответом биосистемы является индукция синтеза HIF1 α , а через 3 месяца при сохранении гипоксических условий повышается значимость ферментов КК, ЛДГ и Na⁺,K⁺-АТФазы. Это подчеркивает значимость регуляции активности эволюционно древних ферментов при жизненно важных изменениях в клеточном метаболизме («реликтовые ритмы функциональных изменений») [68; 69].

Фармакологическая коррекция должна быть направлена на синхронизацию процессов связывания кислорода и его утилизацию клетками головного мозга, что будет способствовать формированию биоэнергетических механизмов долгосрочной адаптации к гипоксическим условиям.

В результате оценки аддитивности (Таблица 32) подтверждается, что «усиление окислительного давления» и его последствия усугубляются длительным изменением светового режима. Отчетливо усиливающее действие проявляется для показателя активности Na⁺,K⁺-АТФазы, а также антагонизм для показателей активности креатинкиназы и концентрации HIF1 α .

Таблица 32 – Оценка аддитивности взаимодействия исследуемых процессов для показателей энергетического обмена в тканях головного мозга крыс (тиопентал натрия, 1 мес, 3 мес)

Постоянное освещение						Постоянная темнота				
1 месяц светового десинхрониза после острого отравления тиопентал натрия в дозе LD50										
Показатель, ед.измерения	Влияние фактора			Сумма эффектов А+В	ИА, оценка взаимодейств ия	Влияние фактора			Сумма эффектов А+В	ИА, оценка взаимодействия
	А отравл ение	В освещ ение	А*В			А отравлен ие	В освеще ние	А*В		
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза мкмоль Фн /мг белка в час						-0,47	+2,8	+4,28	+2,33	1,8, потенцирование, игнорирование фактора А
3 месяца светового десинхрониза после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50										
HIF1α, нг/мл	+0,04	+0,03	+0,04	0,07	0,6 частичный антагонизм	+0,04	+0,042	+0,016	+0,082	0,19, антагонизм
КК, ед.акт./г белка	+102,4	-94,7	-51,9	+7,7	антагонизм					

4.4 Изучение катехоламинов в плазме крови крыс в условиях измененного светового режима и при «усилении окислительного давления»

4.4.1 Показатели катехоламинов в плазме крови через 1 месяц после изменения светового режима

Через 1 месяц после пребывания животных в условиях измененного светового режима концентрация дофамина достоверно уменьшилась в группе «постоянное освещение» на 86,6%, в группе «постоянная темнота» на 80,5% по сравнению с контрольной группой (Таблица 33).

Таблица 33 – Значения показателей катехоламинов в плазме крови крыс при обычном освещении, постоянном освещении, постоянной темноте через 1 месяц эксперимента

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Дофамин, нг/л	15,4±7,2	2,0±1,4*	3,0±2,0*
Норадреналин, нг/л	2562,6±330,4	2725,0±569,4#	5385,8±195,0*#
Адреналин, нг/л	5051,6±444,4	5632,8±1302,8	9469,0±1582,2

* – достоверно в сравнении с группой обычное освещение (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни); # – достоверно при сравнении между группами с измененным световым режимом (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Концентрация норадреналина (НА) у животных, находившихся в условиях с измененным световым режимом повышалась. В группе «постоянная темнота» концентрация НА достоверно увеличивалась в 2,1 раза по сравнению с группой «обычное освещение» и в 1,9 раза по сравнению с группой «постоянное освещение». Концентрация адреналина в плазме крови крыс, находившихся в условиях с измененным световым режимом, также имела отчетливую тенденцию к повышению.

4.4.2 Результаты исследований катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после изменения светового режима

Через 3 месяца концентрация дофамина в плазме крови животных с измененным световым режимом находилась на одном уровне с животными из группы с обычным освещением (Таблица 34). Концентрация НА у животных, находившихся в условиях с измененным световым режимом снижалась, достигая статистической значимости в группе

«постоянная темнота» (на 44,6% ниже по сравнению с группой «обычное освещение»).

Таблица 34 – Показатели катехоламинов в плазме крови крыс при обычном освещении, постоянном освещении, постоянной темноте через 3 месяца эксперимента

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Дофамин, нг/л	5,9±2,5	6,1±4,6	5,1±4,1
Норадреналин, нг/л	5437,5±122,3	4232,3±561,6	3011,0±224,0*
Адреналин, нг/л	10168,1±186,0	5729,4±880,9*	3756,8±115,0*

* – достоверно в сравнении с группой обычное освещение (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни); # – достоверно при сравнении между группами с измененным световым режимом (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Концентрация адреналина снижалась в группе «постоянное освещение» на 43,7%, в группе «постоянная темнота» на 63,1% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

4.4.3 Результаты исследований катехоламинов в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» концентрация дофамина достоверно снижалась на 53,2% по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 35). Концентрация НА в группе отравленных крыс, находившихся при обычном освещении статистически недостоверно снижалась на 18,5%, а концентрация адреналина повышалась на 16,6% по сравнению с группой контрольных животных.

Через 1 месяц после однократного острого отравления тиопенталом натрия и изменения светового режима снижение концентрации дофамина было более значительным. Так, в группе «постоянное освещение+ тиопентал натрия» концентрация дофамина снизилась на 73,6%, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 84,6% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). Кроме того, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» концентрация дофамина достоверно снижалась на 66,6% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 57,1% по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия». Концентрация НА в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» достоверно повысилась на 32,9 % по сравнению с группой «обычное освещение» и на 57,4% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия».

Таблица 35 – Показатели катехоламинов в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Дофамин, нг/л	15,4±7,2	7,2±2,4*	5,6±2,8*	2,4±1,6*#^
Норадреналин, нг/л	2562,6±330,4	2162,6±303,4	3405,0±362,8*#	5126,6±161,2*#^
Адреналин, нг/л	5051,6±444,4	5388,8±318,8	8500,8±953,6*#	10083,0±462,6*#

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); ^ - достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» концентрация НА также достоверно повышалась в 2,0 раза по сравнению с группой «обычное освещение» и в 2,4 раза по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Также отмечалось достоверное повышение содержания НА в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 50,5 % по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия». Концентрация адреналина в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» достоверно повысилась на 68,3 % по сравнению с группой «обычное освещение» и на 57,7% по сравнению с группой «обычное освещение +тиопентал натрия». В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» концентрация адреналина также достоверно повышалась в 2,0 раза по сравнению с группой «обычное освещение» и в 1,9 раза по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия».

4.4.4 Результаты исследований катехоламинов в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхрониза

Через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» наблюдалось достоверное снижение концентрации НА на 25,1% и концентрации адреналина на 32,6% по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 36). Концентрация дофамина в данной группе незначительно повышалась. Через 3 месяца после «окислительного давления» и изменения светового режима наблюдалось повышение концентрации дофамина. Так, в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» концентрация дофамина увеличилась на 88,1%, в группе «постоянная темнота+тиопентал

натрия» – на 96,6% по сравнению с группой «обычное освещение» ($p \leq 0,05$).

Таблица 36 – Показатели катехоламинов в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Дофамин, нг/л	5,9±2,5	8,7±3,4	11,1±2,5*	11,6±5,2*
Норадреналин, нг/л	5437,5±122,3	4070,3±301,7*	4891,5±149,5	2429,7±221,6*#^
Адреналин, нг/л	10168,1±186,0	6853,9±141,6*	4714,1±569,4*#	4447,7±198,7*#

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); ^ - достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Концентрация норадреналина в группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» достоверно понизилась на 55,3% по сравнению с группой «обычное освещение», на 40,3% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», на 50,3% по сравнению с группой «постоянная темнота+тиопентал натрия». Концентрация адреналина в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» достоверно понизилась на 53,6% по сравнению с группой «обычное освещение» и на 31,2% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Концентрация адреналина в группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» также достоверно понизилась на 56,3% по сравнению с группой «обычное освещение» и на 35,1% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия».

4.4.5 Обсуждение результатов исследования катехоламинов в плазме крови при «усилении окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза

Большинство биологических систем имеют циркадную ритмику. Существует два основных типа регуляции ритма: экзогенный тип, зависящий от внешних стимулов (свет, прием пищи, психическая нагрузка, двигательная активность) и эндогенный тип, основанный на клеточной осцилляции (окислительно-восстановительный баланс в клетке, обратная транскрипционно-трансляционная положительная и отрицательная петли, энергетический метаболизм), который реализуется через нервно-гуморальные механизмы [374; 381]. По данным

литературы секреция катехоламинов имеет выраженный циркадианный ритм, регуляция которого зависит от воздействия светового сигнала и уровня энергетического метаболизма в клетке [402].

Проведенное исследование показало существенные изменения содержания катехоламинов в условиях изменения светового режима.

В группах с измененным световым режимом через 1 месяц эксперимента концентрация дофамина достоверно уменьшилась по сравнению с группой обычное освещение: в группе с постоянным освещением — на 86,6%, в группе с постоянной темнотой — на 80,5%. Концентрация норадреналина в плазме крови животных, находившихся в условиях с измененным световым режимом, повысилась в 2,1 раза по сравнению с крысами, находившихся при обычном освещении. Концентрация норадреналина в группе с постоянной темнотой повысилась на 97,6% по сравнению с группой постоянное освещение. Концентрация адреналина в плазме крови крыс, находившихся в условиях длительного светового десинхроноза, также повысилась по сравнению с крысами, находившихся при обычном освещении, наибольшее увеличение обнаружено в группе с постоянной темнотой – на 87,4%. Сравнительный анализ групп с измененным световым режимом показал увеличение концентрации адреналина в группе с отсутствием света на 68,1%.

Дофамин – нейротрансмиттер, который синтезируется в нейрональных тканях и оказывает свое действие на двигательную, исследовательскую, творческую активности, необходим для развития и поддержания когнитивных навыков организма. В плазму крови дофамин из ЦНС попадет в крайне малых количествах. Как дистантный и локальный гормон дофамин синтезируется в клетках мозгового вещества надпочечников, в ЖКТ, в проксимальных канальцах почек. По данным литературы синтез, секреция и метаболизм дофамина тесно взаимодействует с гормоном мелатонином в клетках сетчатки глаза различных видов животных [8; 538]. Мелатонин – эпифизарный гормон, синтезируется из аминокислоты триптофан. Активируется синтез мелатонина в ночное время суток и 80% амина поступает из пинеалоцитов в кровотока. В течение световых часов фоторецепторные клетки сетчатки глаза гиперполяризованы и в супрахиазматические ядра гипоталамуса не поступает сигнал, что тормозит выделение норадреналина. С наступлением темноты нервный сигнал освобождает норадреналин, активируется система ретиногипоталамус-эпифиз, увеличивается количество $\alpha 1$ - и $\beta 1$ -адренорецепторов в эпифизе [24]. Также синтез мелатонина выявлен во всех участках ЖКТ, в дыхательных путях, в поджелудочной железе, в надпочечниках, в печени, в почках [190]. Данные литературы свидетельствуют, что изменение освещения приводит к изменению концентрации дофамина в сетчатке животных в зависимости от светового режима [563]. При

освещении концентрация дофамина увеличивается в клетках сетчатки, в условиях темноты высвобождение дофамина ингибируется мелатонином. Был сделан вывод о том, что дофамин является промежуточным звеном в ингибирующем действии света на синтез мелатонина [563]. Полученные нами данные демонстрируют, что свет также играет важную роль в регуляции содержания дофамина в плазме крови. Изменение периодичности поступления светового сигнала значительно снизило концентрацию биогенного амина в плазме крови. При этом концентрация норадреналина увеличилась в 2,1 раза только в группе постоянной темноты. Норадреналин после синтеза депонируется в симпатических постганглионарных нейронах, а адреналин — в хромафинных везикулах мозгового слоя надпочечников. Данные гормоны контролируют углеводно-липидный обмен в клетках. Синтез катехоламинов из тирозина — это многоступенчатый процесс и регулируется за счет способности конечного продукта к ингибированию первого фермента, тирозингидроксилазы (ЕС 1.14.16.2). Этот фермент ингибируется как норадреналином, так и дофамином и адреналином. Длительное изменение светового режима, с одной стороны, как стрессорный фактор активирует секрецию норадреналина и адреналина, что приводит к ингибированию синтеза дофамина. С другой стороны, нарушена периодичность синтеза и выделения мелатонина, так как ключевые ферменты арилалкил N-ацетилтрансфераза (ЕС 2.3.1.37) и гидроксииндол-О-метилтрансфераза (ЕС 2.1.1.4) зависят от ритмичности поступления фотонов белого света. Таким образом, можно предположить, что концентрация дофамина в плазме крови зависит от поступления внешнего светового сигнала, а концентрация норадреналина и адреналина определяется также активностью энергетического обмена в клетке и локальной осцилляции в клетке. В свете наших исследований биологических ритмов и их взаимосвязи с клеточным метаболизмом, стало известно, что нарушение циркадной ритмики приводит к гипоксии в клетке и наоборот, гипоксия способствует нарушению, в первую очередь, окислительно-восстановительного и энергетического баланса в клетке и дестабилизирует биологические ритмы. Последствия световой депривация проявляются в нарушении антиоксидантного баланса и энергетического метаболизма клетки. В данном эксперименте к этим данным добавилось количественно значимое увеличение концентрации адреналина в плазме крови животных в группе постоянной темноты.

В случае «усиления окислительного давления» и изменения энергетического статуса организма также были выявлены достоверно значимые различия между группами с разным режимом освещения. В проведенном экспериментальном исследовании установлено, что через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия в группе без изменения светового режима концентрация дофамина в плазме крови достоверно снижалась на 53,2% по сравнению

с контрольной группой. Концентрация норадреналина и адреналина в плазме крови у крыс, находившихся при обычном освещении и перенесших интоксикацию, изменялась незначительно. Это согласуется с данными японских исследователей, которые установили, в крови крыс, анестезированных пентобарбиталом в дозе 60 мг/кг и 120 мг/кг, уровень катехоламинов слегка снижался через 5, 15 и 30 мин после анестезии, но статистически не значимо [402].

К более существенным изменениям содержания катехоламинов в плазме крови подопытных животных привело действие светового десинхроноза после «усиления окислительного давления». Так, в группе отравленных животных с постоянным освещением концентрация дофамина понизилась на 63,6%, в группе с постоянной темнотой – понизилась на 84,4% по сравнению с контрольной группой. В группе отравленных животных с постоянной темнотой концентрация дофамина понизилась на 84,4% по сравнению с контрольной группой и на 66,7% по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. Сравнительный анализ групп с измененным световым режимом показал достоверное снижение концентрации дофамина в группе постоянная темнота на 57,1%.

Концентрация норадреналина в группе отравленных животных с постоянным освещением повысилась на 57,4% по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. В группе отравленных животных с постоянной темнотой концентрация норадреналина повысилась в 2 раза по сравнению с контрольной группой и в 2,4 раза по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. Сравнительный анализ групп с измененным световым режимом показал достоверное повышение концентрации норадреналина в группе постоянная темнота на 50,6%.

Концентрация адреналина в группе отравленных животных с постоянным освещением повысилась на 68,3% по сравнению с контрольной группой, и на 57,7% — по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. В группе отравленных животных с постоянной темнотой концентрация адреналина повысилась в 2 раза по сравнению с контрольной группой и в 1,9 раза по сравнению с отравленными животными, находившимися при светодиодном освещении. Сравнительный анализ групп с измененным световым режимом показал достоверное повышение концентрации адреналина в группе постоянная темнота на 18,6%.

Выявленные изменения свидетельствуют, что ведущим фактором, способствующим снижению концентрации дофамина в плазме крови, является изменение светового режима в течение 1 месяца. В сочетании с последствиями «усиления окислительного давления», эти изменения наиболее выражены в группе постоянная темнота. Как было сказано выше,

последствиями отравления тиопенталом натрия является гипоксия, активация процессов антиоксидантной защиты, нарушение энергетического метаболизма в клетке. Также известно, что нарушение светового режима способствует развитию гипоксии, активации антиоксидантной защиты, активации источников клеточной осцилляции — клеточных пероксидаз [435]. Эти изменения отражаются на клеточной энергетике и на кинетике всех реакций с участием кислорода. Реакции синтеза катехоламинов (тирозингидроксилазная реакция) и утилизация биогенных аминов протекают с участием кислорода. В результате обезвреживания катехоламинов образуется перекись водорода, один из источников образования активных форм кислорода, что влияет на окислительно-восстановительный баланс в клетке. Возможно, данные реакции также вносят свой вклад в увеличение концентрации норадреналина и адреналина при изменении освещения.

Через 3 месяца длительного светового десинхроноза концентрация дофамина в плазме крови животных групп находилась на одном уровне со значениями показателей концентрации у животных, находившимися при обычном освещении. Концентрация норадреналина в плазме крови крыс, находившихся 3 месяца в условиях измененного светового режима, снижалась по сравнению с животными, находившимися при обычном освещении. Так, в группе с постоянной темнотой концентрация норадреналина достоверно снижалась на 44,6% по сравнению с группой обычного освещения. Сравнительный анализ содержания норадреналина между группами с измененным световым режимом не выявил статистически значимых отличий. Концентрация адреналина в плазме крови крыс, находившихся 3 месяца в условиях с измененным световым режимом, снижалась по сравнению с животными, находившимися при обычном освещении, более выражено. В группе постоянного освещения концентрация адреналина снижалась на 43,7%, а в группе постоянной темноты – на 63,1% по сравнению с группой светодиодного освещения. Сравнительный анализ содержания адреналина между группами с измененным световым режимом также выявил статистически незначимую тенденцию снижения данного показателя в группе постоянной темноты на 34,4%.

Полученные данные свидетельствуют о развитии процессов долгосрочной адаптации к экстремально изменившимся условиям внешней среды, и на первый план выходит эндогенный компонент регуляции ритма. Уровень дофамина в группах с измененным световым режимом находится в пределах значений показателя в группе со светодиодным освещением. При этом уровень норадреналина в плазме крови животных из групп с измененным световым режимом был ниже, чем в контрольной группе. Это свидетельствует о нарушении ритма секреции мелатонина, не связанного с поступлением светового сигнала. Это значит, что взаимодействие между мелатонином и дофамином определяется не только ритмом светового сигнала, а еще и

другими входящими сигналами. Повышенная концентрация норадреналина в плазме крови отравленных животных при световом десинхронозе может быть связана с ослаблением обратного захвата гормона или с истощением энергетических ресурсов клетки. Концентрация адреналина в плазме крови в группах с измененным световым режимом находится примерно на уровне норадреналина, что может свидетельствовать о снижении активности фермента фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы (ЕС 2.1.1.28) при нарушенном поступлении фотонов света.

Через 3 месяца после интоксикации тиопенталом натрия в группе обычного освещения происходит достоверное повышение концентрации дофамина на 47,5% по сравнению с группой контрольных животных. У отравленных крыс, находившихся при обычном освещении, концентрация норадреналина и адреналина достоверно снижается на 25,1% и на 32,6% соответственно, по сравнению с группой контрольных животных.

Через 3 месяца сочетанного воздействия светового десинхроноза и «окислительного давления» привело к значительным изменениям содержания катехоламинов в плазме крови подопытных животных. Так, в группе отравленных животных «постоянное освещение» концентрация дофамина повысилась на 88,1% по сравнению с контрольной группой и на 27,6% – по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. В группе отравленных животных в сочетании с постоянной темнотой концентрация дофамина достоверно повысилась на 96,6% по сравнению с контрольной группой и на 33,3% по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении.

Концентрация норадреналина в группе отравленных животных с постоянным освещением имела тенденцию к снижению (на 20,2%) по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. В группе отравленных животных в сочетании с постоянной темнотой концентрация норадреналина понизилась на 55,3% по сравнению с контрольной группой и на 40,3% – по сравнению с отравленными животными, находившимися при обычном освещении. Сравнительный анализ групп с измененным световым режимом показал достоверное понижение концентрации норадреналина в группе с постоянной темнотой на 50,3%.

Концентрация адреналина в группе отравленных животных «постоянное освещение» достоверно понизилась на 53,6% по сравнению с контрольной группой и на 31,2% по сравнению с отравленными животными, находившимися при светодиодном освещении. В группе отравленных животных с постоянной темнотой концентрация адреналина значимо понизилась на 56,3% по сравнению с контрольной группой и на 35,1% по сравнению с отравленными животными, находившимися при светодиодном освещении.

Через 3 месяца сочетанного действия длительного светового десинхроноза и «окислительного давления» уровень дофамина в плазме крови значительно возрастает при сравнении со значениями показателя без отравления. Возможно, это связано с отдаленными последствиями острого отравления нейротоксикантом и процессами апоптоза нейронов в ЦНС [156] и в качестве компенсации снижения концентрации дофамина в мозге, его синтез увеличился вне нейрональной ткани. Также воздействие нейротоксиканта, возможно, оказало значительное воздействие на активность ферментов дофамин β -гидроксилазы (ЕС 1.14.17.1) и фенилэтаноламин-N-метилтрансферазы, вследствие чего концентрация норадреналина и адреналина в плазме крови ниже, чем в группе неотравленных животных.

Таким образом, исследование содержания катехоламинов в плазме крови при «усилении окислительного давления» в условиях длительного светового десинхроноза, выявило существенные изменения содержания биогенных аминов в плазме крови, подтверждающее вовлечение дофамина, норадреналина и адреналина в реализацию последствий такого воздействия. Концентрация катехоламинов в плазме крови крыс зависит от ритмического поступления светового сигнала. В случае «усиления окислительного давления» наибольшую вариабельность обнаруживает концентрация дофамина в плазме крови. Концентрация норадреналина и адреналина в плазме крови также зависит от поступления светового сигнала, но гораздо в меньшей степени.

4.5 Изучение нейротрофических маркеров в плазме крови крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

4.5.1 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 1 месяц изменения светового режима

Через 1 месяц после изменения светового режима у крыс в группе «постоянное освещение» отмечалось достоверное увеличение концентрации МВР на 40,1%, а в группе «постоянная темнота» – на 50,5% по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 37). В группах с измененным световым режимом отмечалась тенденция к снижению содержания NSE и увеличению содержания PEDF по сравнению с группой «обычное освещение». Достоверное изменение концентрации МВР указывает на деструктивные процессы в тканях головного мозга. Данные изменения могут быть связаны с реструктуризацией миелиновой оболочки и соответственно с изменением импульсной и транслокаторной активности нейронов.

Таблица 37 – Показатели нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 1 месяц после изменения светового режима

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
NSE, нг/мл	17038,2±927,5	14999,1±612,2	15212,1±630,2
MBP, нг/мл	5,50±0,47	7,71±0,52*	8,28±1,26*
BDNF, пг/мл	472,1±44,5	396,86±87,69	696,33±86,69
PEDF, нг/мл	225,3±12,7	244,41±5,82	262,6±3,85
S-100, нг/мл	4,75±0,19	4,72±0,16	4,61±0,17

* – достоверно в сравнении с группой обычное освещение (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

4.5.2 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 3 месяца изменения светового режима

Через 3 месяца после изменения освещения большая часть изменений со стороны нейротрофических факторов недостоверна (Таблица 38).

Таблица 38 – Показатели нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 3 месяца после изменения светового режима

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
NSE, нг/мл	13970,93±813,14	11530,6±374,4*	12063,06±238,66*
MBP, нг/мл	11,41±1,44	9,11±0,57	8,82±0,49
BDNF, пг/мл	363,73±88,68	359,27±50,25	507,55±45,04
PEDF, нг/мл	226,34±26,58	235,87±26,23	265,3±15,4
S-100, нг/мл	3,99±0,23	3,6±0,2	4,01±0,23

* – достоверно в сравнении с группой обычное освещение (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Исключением явилась нейронспецифическая енолаза. Концентрация данного фермента достоверно снизилась в группе «постоянное освещение» на 17,4%, в группе «постоянная

темнота» – на 13,6% по сравнению с группой «обычное освещение».

4.5.3 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» достоверно увеличилась концентрация МВР в 2,8 раза по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 39). Также в данной группе достоверно увеличилась концентрация белка S-100 на 19,3% и концентрация PEDF на 15,1 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, после «усиления окислительного давления» в условиях длительного изменения светового режима нарастают процессы разрушения миелиновых оболочек, нарушаются процессы энергообеспечения и обмена кальция в нейронах. Данные изменения выражаются в нейропротекторной активности при развитии патологических процессов, связанных с дисбалансом активных форм кислорода.

Таблица 39 – Показатели нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном освещении и изменении светового режима

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
NSE, нг/мл	17038,2±927,5	12424,77±826,58	11603,7±722,8*	11494,7±687,1*
МВР, нг/мл	5,50±0,47	15,25±3,12*	19,93±1,67*#	16,03±1,44*
BDNF, пг/мл	472,1±44,5	680,61±75,19	413,8±159,5#	883,11±227,42
PEDF, нг/мл	225,3±12,7	259,1±6,0*	263,0±5,5*	255,9±3,0*
S-100, нг/мл	4,75±0,19	5,67±0,32*	5,89±0,33*	5,06±0,14

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$) # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Через 1 месяц после однократного острого отравления тиопенталом натрия и изменения светового режима концентрация МВР достоверно увеличилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» в 3,6 раза, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» в 2,9 раза по сравнению с группой «обычное освещение» на 30,6 % по сравнению со значением в

группе контроля. Концентрация NSE достоверно снизилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 31,9%, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 32,5% по сравнению с группой «обычное освещение».

В группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» достоверно снизилась концентрация BDNF на 39,1% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Концентрация PEDF достоверно увеличивалась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 16,7%, в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 13,6% по сравнению с группой «обычное освещение». Концентрация белка S-100 достоверно увеличивалась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 24,0% по сравнению с группой «обычное освещение».

4.5.4 Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения достоверных изменений содержания нейротрофических маркеров в плазме крови эспериментальных животных не наблюдалось (Таблица 40).

В случае изменения светового режима через 3 месяца после однократного острого отравления тиопенталом натрия концентрация NSE достоверно снизилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 27,9% по сравнению с группой «обычное освещение», на 18,6% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» концентрация NSE достоверно снизилась на 26,1% по сравнению с группой «обычное освещение», на 16,6% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия».

Концентрация MBP достоверно снизилась в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» на 38,9% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Концентрация PEDF достоверно увеличивается в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 24,4%, а в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» – на 23,5% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия».

Таким образом, изменение светового режима на фоне «окислительного давления» способствует усилению процессов разрушения миелиновых оболочек, воздействует на процессы энергообеспечения и обмена кальция в нейронах. Данные изменения выражаются в увеличении концентрации нейротрофических белков с нейропротекторной активностью. Полученные данные свидетельствуют, что нейротрофические белки вовлечены в реализацию

ответной реакции организма на оксидативный стресс и длительное изменение светового режима. Увеличение концентрации MBP и снижение BDNF, NSE является предиктором различных нейродегенеративных форм патологий. Увеличение содержания PEDF в плазме крови животных через 3 месяца после воздействия окислительного давления и изменения светового режима, можно расценивать как защитную адаптивную реакцию при окислительным дисбалансе и стресс-провоцирующем влиянии АФК.

Таблица 40 – Показатели нейротрофических маркеров в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении и измененном световом режиме

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
NSE, нг/мл	13970,93±813,14	12373,66±850,42	10076,17±392,22*#	10323,66±359,07* #
MBP, нг/мл	11,41±1,44	15,7±3,55	11,92±1,15	9,59±0,83#
BDNF, пг/мл	363,73±88,68	259,04±41,34	245,6±34,15	357,94±70,92
PEDF, нг/мл	226,34±26,58	229,11±21,08	285,7±12,9#	283,98±10,41#
S-100, нг/мл	3,99±0,23	4,49±0,33	4,88±0,23	4,59±0,25

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); ^ - достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что через 1 месяц при постоянном освещении вклад фактора А («усиление окислительного давления») значительно проявился в концентрации MBP (ФД=0,606), NSE (ФД=0,540), S-100 (ФД=0,440) и PEDF (ФД=0,313) в тканях головного мозга. Значимого вклада фактора В (освещение) в тканях головного мозга на показателях нейротрофических маркеров не выявлено (Таблица 41).

При постоянной темноте наблюдается аналогичная ситуация. Вклад фактора А существенно выше в развитие неблагоприятных последствий пребывания животных в условиях длительного светового десинхроноза. Так для показателя MBP (ФД=0,514), NSE (ФД=0,550) и S-100 (ФД=0,235). Фактор В проявил свое влияние в увеличении содержания PEDF (ФД=0,145) (Таблица 42). Эффект взаимодействия двух факторов проявился на показателе PEDF при

постоянной темноте (ФД=0,205).

Таблица 41 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели нейротрофических маркеров через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А Отравление		Фактор В Освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	0,440	0,001*	0,003	0,720	0,006	0,641	0,549
BDNF	0,049	0,296	0,055	0,267	0,037	0,358	0,857
MBP	0,606	$5,917 \times 10^{-6}$ *	0,059	0,070	0,007	0,501	0,326
PEDF	0,313	0,004*	0,060	0,170	0,026	0,361	0,599
NSE	0,540	$3,11 \times 10^{-5}$ *	0,068	0,070	0,012	0,425	0,378

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Таблица 42 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели нейротрофических маркеров через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А Отравление		Фактор В Освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	0,235	0,015*	0,069	0,163	0,027	0,370	0,666
BDNF	0,070	0,209	0,082	0,179	0,002	0,836	0,845
MBP	0,514	0,0001*	0,021	0,345	0,007	0,593	0,457
PEDF	0,091	0,084	0,145	0,033*	0,205	0,013*	0,557
NSE	0,550	$3,0 \times 10^{-5}$ *	0,060	0,091	0,006	0,570	0,382

* – Достоверность при $p \leq 0,05$

Через 3 месяца при постоянном освещении вклад фактора А («усиление окислительного давления») значительно проявился в концентрации NSE (ФД=0,142), S-100 (ФД=0,293) в тканях головного мозга. Значимый вклад фактора В (освещение) в тканях головного мозга в развитие последствий проявился на показателе NSE (ФД=0,343) (Таблица 43).

Таблица 43 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели нейротрофических маркеров через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В Освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,293	0,007*	$3,443 \times 10^{-6}$	0,991	0,055	0,208	0,651
BDNF	0,135	0,091	0,003	0,796	0,002	0,848	0,859
MBP	0,121	0,094	0,088	0,148	0,005	0,718	0,784
PEDF	0,055	0,254	0,088	0,155	0,044	0,306	0,811
NSE	0,142	0,028*	0,343	0,002*	0,0003	0,913	0,513

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При постоянной темноте вклад фактора А в развитие неблагоприятных последствий после однократного отравления и пребывания животных в условиях длительного светового десинхроноза проявился только для NSE (ФД=0,191). Фактор В внес более весомое влияние в увеличении содержания NSE (ФД=0,269), PEDF (ФД=0,223) и MBP (ФД=0,177) (Таблица 44).

Эффект взаимодействия двух факторов через 3 месяца светового десинхроноза не проявился ни на одном показателе, в отличие от результатов исследования через 1 месяц.

Таблица 44 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели нейротрофических маркеров через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А Отравление		Фактор В Освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,122	0,110	0,002	0,845	0,0007	0,899	0,875
BDNF	0,128	0,085	0,086	0,151	0,003	0,752	0,781
MBP	0,060	0,215	0,177	0,039*	0,029	0,383	0,733
PEDF	0,011	0,585	0,223	0,024*	0,006	0,685	0,758
NSE	0,191	0,014*	0,269	0,004*	0,0003	0,910	0,539

* – достоверность при $p \leq 0,05$

4.5.5 Обсуждение изменений концентрации нейротрофических маркеров в плазме крови крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

В условиях «усиления окислительного давления» гипоксия является основным фактором повреждения клеток головного мозга. Вследствие чего развивается дополнительная продукция АФК, что приводит к окислительной деструкции белков плазматической мембраны, деградации миелина, демиелинизацию и разрушение миелиновых белков. Нарушение структуры белков плазматической мембраны сопровождается нарушением ее функциональной активности. Так как нервная ткань является особенно чувствительной к АФК, что обусловлено высоким метаболическим уровнем, уникальным липидным составом и минимальным клеточным обновлением, окислительный стресс приводит к дисбалансу в антиоксидантной системе и инициации механизмов апоптоза. Это своего рода защитный физиологический ответ организма на состояние окислительного стресса, на первых стадиях которого, организм за счет апоптоза пытается отбраковать поврежденные клетки. В проведенном нами ранее комплексном исследовании биохимических и патоморфологических маркеров апоптоза и антиоксидантной защиты показало, что состояние тиопенталовой комы сопровождалось снижением антиоксидантного статуса и активацией процессов апоптоза [87].

Иммуногистохимическое исследование экспрессии каспазы-3 в нервной ткани мозга крыс выявило ее повышенную экспрессию в сенсомоторной коре и гиппокампе спустя 3 суток после воздействия препаратом [155; 156]. С другой стороны, АФК как индукторы окислительного стресса характеризуются проявлениями как негативных, так и позитивных последствий, стимулируя нейрогенез [50].

В проведенном исследовании в результате длительного светового десинхроноза в течение 1 месяца в плазме крови экспериментальных животных достоверно повышается концентрация основного белка миелина в группе «постоянное освещение» на 40,1%, в группе «постоянная темнота» – на 50,5% по сравнению с группой «обычное освещение». Основным белком миелина является потенциальным биомаркером заболеваний центральной нервной системы, при которых разрушается миелиновая оболочка. Сам белок или его фрагменты могут проникать в спинномозговую жидкость и другие жидкости организма. Уровень данного белка в жидкости зависит от степени повреждения ЦНС, так и от того, как давно это произошло. Вследствие хронического светового десинхроноза развивается окислительный стресс, что способствует деструкции плазматических мембран нервных клеток и уже довольно продолжительное время.

При длительном световом десинхронозе в течение 1 месяца наблюдается достоверное

снижение активности ЛДГ. Также наблюдается снижение активности нейрон-специфической енолазы. Нейронспецифическая енолаза (NSE) – фермент, катализирующий обратимую реакцию превращения 2-фосфоглицерата в фосфоенолпируват. В норме активность данного фермента проявляется в светлый период, что способствует более высокой метаболической активности нейронов в этот период [479]. Активность данного фермента связана с энергетическими процессами, которые контролируются часовыми генами [171]. Фермент энергетического обмена ЛДГ также имеет циркадный ритм и активность его выше в темное время суток. Таким образом, активность этих двух ферментов находится в противофазе и связь между их активностями находится под контролем окислительно-восстановительного состояния клетки. Восстановленная форма никотинамиддинуклеотида (НАДН⁺) способствует усилению транскрипции гена ЛДГ за счет активации E-box связыванием BMAL1/NPAS2. Функция внутриклеточного окислительно-восстановительного потенциала усиливается за счет увеличения концентрации лактата, который транспортируется в качестве метаболического топлива в окружающие нейроны [444]. При гипоксии индуцируется гликолиз, активируется ЛДГ и активность нейрон-специфической енолазы [479]. Таким образом, нарушение светового режима приводит к изменению взаимосвязи между ЛДГ и нейронспецифической енолазой, что нарушает окислительно-восстановительный статус клетки.

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном световом режиме в плазме крови экспериментальных животных наблюдается повышение концентрации PEDF (пигментный фактор эпителиального происхождения) на 15,1%. Анализ литературных данных указывает на протективную роль PEDF при ингибировании апоптоза под действием H₂O₂ на культуры клеток сетчаточных нейронов. PEDF предохраняет гранулярные клетки мозжечка, нейроны гиппокампа и двигательные нейроны спинного мозга от токсического действия глутамата [197; 223; 299]. Основным механизмом антиапоптотического действия PEDF на гранулярные клетки выступает активация транскрипционного фактора NF-κB [546]. В проведенном нами ранее исследовании концентрация PEDF в плазме крови отравленных животных снизилась спустя 6-72 часа после воздействия [156]. Но при изменении светового режима в течение 1 месяца после острого отравления нейротоксикантом протективная роль данного фактора не выявлена. Возможно, это связано с нарушением ритма синтеза или самого фактора или его мРНК.

Также через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном освещении достоверно увеличилась концентрация белка S-100 на 19,3 % по сравнению обычным освещением и без отравления. Белок S100B является периферическим маркером воспаления головного мозга, нейрональной и глиальной дегенерации [230]. Данный факт

свидетельствует о тяжелых отдаленных последствиях отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 для клеток нервной ткани. По данным литературы выявлены циркадианные ритмы у данного белка в мозге у крыс [230]. Отмечается значительное повышение концентрации S100B у больных с различными психическими расстройствами по сравнению со здоровыми пациентами [403]. В нашем исследовании при изменении светового режима в течение 1 месяца не отмечено изменение уровня данного белка в плазме крови животных.

В условиях «усиления окислительного давления» и постоянного освещения выявлено снижение концентрации в плазме крови нейротрофического фактора мозга (BDNF) на 39,1% по сравнению с группой отравленных животных при обычном освещении. Нейротрофический фактор мозга (BDNF) влияет на регуляцию стабильного взаимодействия нейронов, синаптической пластичности и консолидацию долговременной памяти. BDNF выполняет дивергентную функцию в контроле нейрогенеза в течение всей жизни индивидуума. Было обнаружено, что BDNF является мощным модулятором циркадной системы. BDNF активно экспрессируется в супрахиазматических ядрах гипоталамуса (SCN) [390; 414]. Но выявить ритмы BDNF в плазме крови не удалось [460]. Нейротрофический фактор головного мозга играет ключевую роль в регуляции окислительно-восстановительного фактора транскрипции Nrf2 в астроцитах и в метаболических взаимодействиях между астроцитами и нейронами. Также отмечается, что BDNF не может эффективно активировать Nrf2 в нейронах. Примечательно, что нейроны слабо активируют детоксикационные и антиоксидантные ферменты через Nrf2/Keap/ARE (редокс-чувствительная система) сигнальную ось. Таким образом, астроциты предоставляют релевантные транскрипты для синтеза белков в нейронах, повышающие их устойчивость к оксидативному стрессу [557]. Снижение концентрации нейротрофического фактора мозга при постоянном освещении в течение месяца после острого отравления тиопенталом натрия свидетельствует о возможном нарушении синаптической пластичности, нарушении консолидации памяти. Также выявлены нарушения в окислительно-восстановительном балансе клеток мозга.

Через 3 месяца светового десинхроноза выявлено достоверное снижение концентрации нейронспецифической енолазы в плазме крови животных. Возможно, это связано со снижением метаболической активности нейронов при изменении светового режима. При сочетанном действии факторов через 3 месяца выявлено аналогичное достоверное снижение концентрации нейронспецифической енолазы в сочетании с повышением концентрации протективного фактора PEDF. Данные изменения характеризуют изменения в энергетическом обмене клеток мозга при оксидативном стрессе в условиях нарушения светового режима.

Полученные данные свидетельствуют, что в результате длительного светового

десинхроноза и оксидативного стресса возникают нарушения энергетического обмена, процессов нейрогенеза для поддержания клеточного и тканевого гомеостаза, и как следствие возможно развитие психических патологических процессов.

Эффект взаимодействия двух факторов проявился только для фактора PEDF через 1 месяц при режиме освещения – постоянная темнота ($ФД= 0,205$). Оценка аддитивности этого взаимодействия подтверждает усугубление последствий, вызванных однократным отравлением тиопентала натрия в дозе LD50 в клетках мозга действием длительного светового десинхроноза. Индекс аддитивности равен 0,42 и свидетельствует, что усиливающее действие «окислительного давления» носит разнонаправленный характер: состояние гипоксии усугубляется антиангиогенным эффектом PEDF.

4.6 Исследование поведенческой активности крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Данный раздел работы проводился совместно с лабораторией нейрофармакологии ФГБУ НКЦТ им. акад. С.Н. Голикова ФМБА России, с научными сотрудниками Михайловой М.В., Бельской А.В., Лисицким Д.С.

4.6.1 Результаты исследований поведенческой активности крыс через 1 месяц после изменения светового режима

Через 1 месяц после пребывания животных в условиях измененного светового режима было выявлено увеличение горизонтальных перемещений в группе постоянное освещение на 62,6 %, в группе постоянная темнота на 26,6% ($p \leq 0,05$) по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 45). В группе «постоянная темнота» число актов груминга достоверно снижается в 1,5 раза по сравнению с группой «обычное освещение». Среднее расстояние, пройденное животными данной группы, достоверно повышается на 27,2% по сравнению с группой «обычное освещение». Все остальные показатели в группах с измененным световым режимом имеют тенденцию к повышению, но данные изменения недостоверны.

Выявленные изменения свидетельствуют о влиянии изменения светового режима на поведенческую активность при помещении животных в новое пространство. Ориентировочно-исследовательская деятельность животных повышается, что выражается в увеличении горизонтальной активности и количестве вертикальных стоек.

Таблица 45 – Показатели теста «Открытое поле» у крыс-самцов через 1 месяц изменения светового режима

Показатели	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Горизонтальные перемещения, число актов	58,3±4,1	94,8±15,7*	73,8±8,0*
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	39,2±2,8	45,5±8,3	37,5±5,5
Груминг, число актов	44,6±5,0	44,7±7,7	29,8±5,2*
Среднее расстояние, пройденное животным, м	3,75±0,32	5,41±0,91	4,77±0,53*
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	3,1±0,26	4,47±0,75	3,96±0,45
Общая двигательная активность, число актов	97,5±6,6	140,4±23,4	111,4±12,7
Двигательная активность в центре площадки, число актов	10,1±2,2	21,7±6,6	10,7±2,3
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	87,4±6,1	118,7±18,4	100,7±12,4
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)			

Одновременно увеличение количества выходов в центр поля, особенно в группе постоянное освещение, общей двигательной активности, пройденного расстояния животными количества умываний, количества горизонтальных стоек свидетельствует об усилении пассивно-оборонительного поведения, снижения эмоциональности, превалировании тормозных форм поведения, а также нарастания степени агрессивности как естественной реакцией на стресс или неизбежным компонентом развивающихся психических расстройств. Снижение количества умываний в группе «постоянная темнота» также свидетельствует о снижении эмоциональности, так как решение о «замещающем поведении» в виде груминга возникает в условиях конфликтной ситуации. Этот гигиенический ритуал характеризует тормозные охранительно-стабилизирующие тормозные синхронизирующие механизмы, то есть это адаптивная реакция, близкая по характеру к активности покоя, комфорта, некоего подкрепления, попытка преодолеть конфликтную ситуацию [104; 139]. Данные изменения имеют в основе взаимодействие норадренэргических и серотонинэргических структур, которые находятся в реципрокных отношениях. Изменение светового режима нарушает скорость и ритмичность синтеза катехоламинов и серотонина, мелатонина.

4.6.2 Результаты исследований поведенческой активности крыс через 3 месяца после изменения светового режима

Через 3 месяца после пребывания животных в условиях измененного светового режима было выявлено снижение горизонтальных перемещений в группе «постоянное освещение» на 53,3%, в группе «постоянная темнота» – на 58,9% ($p \leq 0,05$) (Таблица 46). Вертикальная активность также существенно снизилась в группе «постоянное освещение» на 64,2%, в группе «постоянная темнота» – на 50,5% по сравнению с показателями из группы «обычное освещение» ($p \leq 0,05$). В группе «постоянное освещение» также снизились общая двигательная активность (на 61,1%), средняя скорость (на 65,8%) и среднее пройденное расстояние на 68,0% по сравнению с контрольной группой. В группе «постоянная темнота» общая двигательная активность снизилась на 55,9 %, средняя скорость на 65,8 %. среднее пройденное расстояние на 64 % по сравнению с группой «обычное освещение». Статистически значимо снизился показатель активности движения на периферии: в группе «постоянное освещение» – на 62,5%, в группе «постоянная темнота» – на 52,9%. Количество умываний достоверно уменьшилось на 73,3 % в группе постоянное освещение и на 83,6 % в группе постоянная темнота. Данные изменения свидетельствуют о развитии хронического стресса при изменении в течение 3 месяцев светового режима.

Таблица 46 – Показатели теста «Открытое поле» у крыс-самцов через 3 месяца после изменения светового режима

Показатели	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Горизонтальные перемещения, число актов	30,2±4,9	14,1±4,6*	12,4±3,4*
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	29,3±3,4	10,5±2,7*	14,5±1,9*
Груминг, число актов	26,3±6,5	7,0±2,1*	4,3±0,9*
Среднее расстояние, пройденное животным, м	1,5±0,3	0,48±0,26*	0,54±0,18*
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	1,23±0,25	0,42±0,22*	0,42±0,13*
Общая двигательная активность, число актов	59,5±6,7	23,1±7,1*	26,2±3,9*
Двигательная активность в центре площадки, число актов	7,4±2,8	3,5±2,3	1,7±0,5

Продолжение Таблицы 46

Показатели	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	52,1±5,3	19,6±5,3*	24,5 ±3,5*
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)			

Все интегральные показатели теста «Открытое поле» выявили нарушение психоэмоциональной активности животных. Это выражается в снижении двигательной активности как в центре площадки, так на периферии, в снижении исследовательско-ориентировочной активности. Уменьшение количества вертикальных стоек, характерных при пассивно-оборонительном поведении, значительное снижение количества умываний свидетельствует в пользу невроза, депрессии, упадка настроения [93].

4.6.3 Показатели поведенческой активности в тесте «Открытое поле» у крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Анализ экспериментальных данных показал, что через 1 месяц после изменения светового режима в группе «обычное освещение+ тиопентал натрия» отмечалось достоверное снижение горизонтальных перемещений крыс на 26,9%, вертикальных стоек также – на 27,8% по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 47). Также в данной группе происходило достоверное снижение среднего пройденного расстояния и общей двигательной активности, соответственно, на 30,4% и на 27,6% по сравнению с контрольной группой. Снижение общей двигательной активности происходило как за счет как выхода в центр площадки (более чем в 2 раза), так и активности на периферии (на 34,7%).

Количественные изменения исследуемых показателей свидетельствуют об изменениях, отражающих нарушения в ЦНС после перенесенного отравления, а именно, нарушения баланса в антиоксидантной системе, проявления гипоксии, апоптоз клеток, изменения метаболизма в нейронах и нейроглии. Как следствие этих процессов снижение двигательной активности свидетельствует о высокой тревожности животных, высоком уровне эмоциональности [105].

Таблица 47 – Показатели теста «Открытое поле» у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и измененного светового режима

Показатели	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Горизонтальные перемещения, число актов	58,3±4,1	42,6±6,0*	57,8±8,4	54,3±4,7
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	39,2±2,8	28,0±3,3*	34,0±3,5	32,8±3,0
Груминг, число актов	44,6±5,0	30,8±6,3	34,3±4,5	24,7±3,1*
Среднее расстояние, пройденное животным, м	3,75±0,32	2,61±0,42*	3,37±0,41	3,26±0,35
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	3,1±0,26	2,14±0,35	2,78±0,33	2,70±0,30
Общая двигательная активность, число актов	97,5±6,6	70,6±9,0*	91,8±9,9	87,1±6,7
Двигательная активность в центре площадки, число актов	10,1±2,2	4,9±1,4*	8,8±1,3#	11,3±1,3#
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	100,7±12,4	65,7±8,0*	83,0±9,0	75,8±6,6
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)				

Изменение светового режима через 1 месяц эксперимента после «усиления окислительного давления» приводило к некоторому увеличению горизонтальных перемещений, вертикальных стоек, общей двигательной активности до уровня контрольной группы. В группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» достоверно увеличилась активность в центре площадки на 79,5% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» достоверно снизился показатель груминга на 33,2% и увеличилась активность в центре площадки в 2,3 раза по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия».

4.6.4 Показатели поведенческой активности в тесте «Открытое поле» у крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» отмечалось достоверное снижение вертикальной активности на 38,5% и общей двигательной активности на 37,1% по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 48).

Таблица 48 – Результаты исследований поведенческих показателей крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза

Показатели	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Горизонтальные перемещения, число актов	30,2±4,9	19,4±4,8	44,8±7,1#	6,3±1,1*#
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	29,3±3,4	18,0±2,8*	30,2±3,6#	9,7±2,2*#
Груминг, число актов	26,3±6,5	17,0±4,8	25,4±5,1	4,2±0,8*#
Среднее расстояние, пройденное животным, м	1,50±0,30	1,13±0,34	2,19±0,38#	0,18±0,04*#
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	1,23±0,25	0,94±0,28	1,82±0,31#	0,16±0,04*#
Общая двигательная активность, число актов	59,5±6,7	37,4±7,5*	75,0±10,6#	15,4±2,9*#
Двигательная активность в центре площадки, число актов	7,4±2,8	2,4±0,7*	12,7±3,0#	0,2±0,2*#
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	52,1±5,3	35,0±7,2	62,3±8,6#	15,2±2,9*#

* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$); # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)

Изменения значений других показателей также имеют тенденцию к снижению. Таким образом, изменения в поведенческих реакциях через 3 месяца после острого отравления

тиопенталом натрия в условиях обычного освещения имеют сходную тенденцию, как и через 1 месяц исследований. Наблюдается высокая тревожность, напряжение эмоционального фона, состояние депрессии. В группе постоянное освещение+тиопентал натрия достоверно увеличилась средняя скорость движения (на 93,6%) и среднее пройденное расстояние (на 93,8%). Увеличение двигательной активности в центре поля более, чем в 5 раз, говорит о низкой эмоциональности, о развитии процессов невротизации. Это может быть связано со срывом адаптационных механизмов и развитием психических нарушений. В группе постоянной темнота+тиопентал натрия» наблюдались иные изменения. Так, вертикальная активность снизилась на 46,1%, горизонтальные перемещения – на 67,5% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и, соответственно на 79,1% и 66,9% по сравнению с группой «обычное освещение». Общая двигательная активность в данной группе снизилась на 58,8%, средняя скорость – на 82,9%, среднее пройденное расстояние – 84,1% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и, соответственно на 74,1%, 87,0% и 88,0% по сравнению с группой «обычное освещение». Активность в центре поля практически исчезла, а по периферии упала на 56,5% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Показатель груминга снизился на 75,3%. Таким образом, такие разнонаправленные изменения в двух группах животных с измененным световым режимом позволяют сделать вывод о полярности эмоциональных состояний и пролонгированном стрессе.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа выявило значительный вклад фактора А («усиление окислительного давления») при постоянном освещении через 1 месяц практически по всем показателям теста «Открытое поле». Факторы детерминации для всех показателей примерно одинаковые. Вклад фактора В (освещение) проявился в показателях горизонтальных перемещений животных ($F_D=0,139$) в общей двигательной активности ($F_D=0,108$) (Таблица 49).

Таблица 49 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели теста «Открытое поле» через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А Отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,144	0,009*	0,139	0,010*	0,023	0,274	0,692

Продолжение Таблицы 49

Показатель	Фактор А Отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,120	0,029*	0,035	0,226	$2,1 \times 10^{-5}$	0,976	0,843
Груминг, число актов	0,101	0,050*	0,002	0,765	0,001	0,778	0,894
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,160	0,007*	0,093	0,038*	0,012	0,431	0,732
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,164	0,007*	0,094	0,037*	0,012	0,437	0,729
Общая двигательная активность, число актов	0,150	0,009*	0,108	0,026*	0,012	0,439	0,729
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,131	0,016*	0,096	0,037*	0,023	0,291	0,747
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,134	0,016*	0,096	0,039*	0,007	0,542	0,761
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Воздействие фактора А («усиления окислительного давления») при постоянной темноте (Таблица 50) через 1 месяц эксперимента оказало подобное воздействие на показатели двигательной активности крыс, как и при постоянном освещении. Вклад разных показателей в общий эффект примерно одинаковый. Воздействие фактора В (изменения светового режима) проявилось на горизонтальных перемещениях животных в данном тесте (ФД=0,105).

Таблица 50 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели теста «Открытое поле» через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,177	0,005*	0,105	0,026*	0,002	0,748	0,714

Продолжение Таблицы 50

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,106	0,043*	0,004	0,685	0,017	0,397	0,871
Грумминг, число актов	0,079	0,067	0,097	0,044*	0,016	0,391	0,806
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,203	0,002*	0,081	0,049*	0,003	0,656	0,711
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,203	0,002*	0,081	0,049*	0,003	0,660	0,711
Общая двигательная активность, число актов	0,169	0,007*	0,059	0,103	0,0004	0,887	0,769
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,035	0,217	0,083	0,064	0,057	0,122	0,823
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,161	0,010*	0,040	0,183	0,001	0,854	0,797
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект взаимодействия двух факторов через 1 месяц исследования не проявился в изучаемых показателях теста «Открытое поле».

Через 3 месяца исследования эффект последствий сочетанного взаимного воздействия острого отравления и изменения светового режима проявился на показателях теста «Открытого поля» на значительном количестве изучаемых показателей в режиме постоянного освещения (Таблица 51).

Факторы детерминации свидетельствуют о примерно одинаковом вкладе всех показателей в ориентировочно-двигательную активность животных на площадке. Наиболее существенно это проявилось на количестве вертикальных стоек животных (ФД=0,385), на общей двигательной активности крыс (ФД=0,345) и на их активности по периферии площадки (ФД=0,330)

Таблица 51 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели теста «Открытое поле» через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,061	0,076	0,013	0,399	0,265	0,001*	0,659
Грумминг, число актов	0,028	0,159	0,017	0,300	0,385	$1,8 \times 10^{-5}$ *	0,569
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,018	0,358	0,026	0,272	0,173	0,007*	0,780
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,086	0,042*	$5,5 \times 10^{-6}$	0,958	0,205	0,002*	0,707
Общая двигательная активность, число актов	0,084	0,045*	0,0003	0,895	0,201	0,002*	0,712
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,056	0,074	$9,08 \times 10^{-5}$	0,941	0,345	$5,7 \times 10^{-5}$ *	0,598
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,016	0,382	0,038	0,185	0,188	0,004*	0,757
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,060	0,066	0,002	0,702	0,330	$8,54 \times 10^{-5}$ *	0,606
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте (Таблица 52) через 3 месяца эксперимента эффект взаимодействия факторов не проявился, каждый фактор по отдельности повлиял на поведенческие показатели животных в данном тесте. Последствия «окислительного давления» (фактор А) оказали влияние на количество вертикальных стоек животных (ФД=0,141), общую двигательную активность (ФД=0,123) и двигательную активность животных по периферии площадки (ФД=0,104). При этом фактор длительного отсутствия освещения (фактор В) значительно повлиял на двигательную активность крыс в тесте «Открытое поле». Все показатели внесли значимый вклад в поведенческую активность животных на площадке при депривации освещения.

Таблица 52 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели теста «Открытое поле» через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,083	0,035*	0,278	0,0003*	0,006	0,547	0,631
Грумминг, число актов	0,141	0,004*	0,291	9,54×10 ⁻⁵ *	0,023	0,224	0,544
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,023	0,256	0,320	0,0001*	0,022	0,266	0,633
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,041	0,145	0,289	0,0003*	3,1×10 ⁻⁷	0,996	0,669
Общая двигательная активность, число актов	0,036	0,167	0,299	0,0002*	0,0001	0,923	0,663
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,123	0,005*	0,349	1,7×10 ⁻⁵ *	0,014	0,317	0,511
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,099	0,033*	0,146	0,010*	0,028	0,240	0,726
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,104	0,012*	0,337	3,65×10 ⁻⁵ *	0,009	0,443	0,548
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

4.7 Исследование когнитивных функций крыс при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

4.7.1 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 1 месяц после изменения светового режима

Через 1 месяц изменения светового режима в группе «постоянная темнота» было выявлено увеличение латентного периода первого захода в темный отсек камеры в 2,4 раза ($p \leq$

0,05) по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 53).

В обеих группах с измененным световым режимом наблюдалась тенденция к уменьшению времени латентного периода захода в темный отсек камеры через 2 часа после обучения и времени нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения соответственно незначительно увеличивалось. Через 24 часа латентный период перехода животных из светлого отсека в темный отсек и время нахождения в светлой камере также были незначительно ниже в группах с измененным световым режимом. Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения также незначительно увеличивалось. Количество обученных животных через 2 часа и через 24 часа после обучения в группах с измененным световым режимом снижается по сравнению с группой «обычное освещение». Наименьшее количество обученных животных выявлено в группе «постоянная темнота».

Таблица 53 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после изменения светового режима

Показатели	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Латентный период первого захода, сек	16,7±2,6	18,2±5,5	39,8±10,3*
Латентный период захода через 2 часа, сек	118,8±1,2	100,7±12,9	92,2±14,3
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, сек	118,8±1,2	100,7±12,9	96,7±11,9
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, сек	1,2±1,2	19,3±12,9	23,3±11,9
Латентный период захода через 24 часа, сек	84,1±15,2	76,8±14,9	74,4±16,6
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, сек	84,1±15,2	78,6±14,2	76,4±15,9
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, сек	35,9±15,2	41,4±14,2	43,6±15,9
Процент обученных животных через 2 ч	90%	80%	70%
Процент обученных животных через 24 ч	60%	50%	40%
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)			

Данные изменения свидетельствуют о влиянии изменения светового режима на двигательную активность животных, вызванную их перемещением в новое пространство и

воздействием негативного аверсивного (вредящего) стимула. В тесте «Открытое поле» было выяснено, что при изменении светового режима ориентировочно-исследовательская активность понижается, одновременно снижается эмоциональность, усиливается пассивно-оборонительное поведение, превалируют тормозные формы поведения, обездвиженность типа катаlepsии [75]. Данные изменения отражаются и в системе адаптивного поведения. Его основой являются обучение и память. В данном тесте в процессе обучения у животных вырабатывали условный рефлекс для пассивного избегания болевого раздражителя путем подавления исследовательской и эмоциональной компоненты поведения [14,15]. Так, латентный период первого захода в темный отсек в группах с измененным световым режимом увеличился, по сравнению с экспериментальными животными из группы «обычное освещение». В группе животных, находившихся в постоянной темноте, этот период увеличен в 2,4 раза ($p < 0,05$). Время, проведенное в светлой камере после двух часов и через 24 часа после обучения в группах с измененным световым режимом меньше, по сравнению с группой «обычное освещение». Это свидетельствует о более быстром угасании рефлекса, о нарушении выработки временных связей.

Воспроизведение информации характеризует процессы ее фиксации (через 2 часа после обучения – кратковременная память), усвоения информации, ее сохранения и извлечения. Доступность этой информации оценивалась через 24 часа после обучения (долговременная память). Воспроизведение информации лучше всего происходило в группе с обычным освещением. В группах с измененным световым режимом процент обученных крыс меньше. Если процент обученных животных в группе с обычным освещением принять за 100%, то через 24 часа в группе постоянной темноты количество обученных животных составило 50%, а в группе постоянной темноты – 40%.

Таким образом, изменение светового режима в течение одного месяца приводит к нарушению когнитивных функций экспериментальных животных, что подтверждается повышением скорости угасания рефлекса и нарушением процессов консолидации памяти.

4.7.2 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 3 месяца после изменения светового режима

Через 3 месяца в группах с измененным световым режимом было выявлено незначительное уменьшение латентного периода первого захода в темный отсек камеры по сравнению с группой «обычное освещение» (Таблица 54). В обеих группах с измененным световым режимом наблюдалась тенденция к уменьшению времени латентного периода захода

в темный отсек камеры через 2 часа после обучения и времени нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения соответственно незначительно увеличилось.

Через 24 часа после обучения латентный период захода в темный отсек достоверно уменьшился в группе «постоянное освещение» на 35,8%, а в группе «постоянная темнота» на 41,9% по сравнению с группой «обычное освещение». Время нахождения в светлой камере в группе «постоянное освещение» достоверно уменьшилось на 19,6%, а в группе «постоянная темнота» на 36,1% по сравнению с группой «обычное освещение». При сравнении показателей 1 и 3 месяца выявляется увеличение времени латентного периода первого выхода в группе постоянное освещение, в 2,6 раза. Количество обученных животных через 2 часа после обучения составило в группе «постоянное освещение» 70%, в группе «постоянная темнота» – 80%. Количество обученных животных через 24 часа составило в группе «постоянное освещение» 60%, в группе «постоянная темнота» – 50%.

Таблица 54 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца после изменения светового режима

Показатели	Экспериментальные группы		
	обычное освещение	постоянное освещение	постоянная темнота
Латентный период первого захода, сек	69,3±12,3	46,7±11,7	58,0±14,5
Латентный период захода через 2 часа, сек	120,0±0,0	90,5±15,1	105,0±10,4
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, сек	120,0±0,0	94,5±13,1	106,0±9,6
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, сек	0,0±0,0	25,5±13,1	14,0±9,6
Латентный период захода через 24 часа, сек	120,0±0,0	77,0±17,6*	69,7±16,8*
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, сек	120,0±0,0	96,5±9,9*	76,7±14,6*
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, сек	0,0±0,0	23,5±9,9	43,3±14,6
Процент обученных животных 2 ч	100%	70%	80%
процент обученных животных 24 ч	100%	60%	50%
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)			

Таким образом, тест УРПИ показал снижение показателей обучения и воспроизведения информации в группах с измененным световым режимом. Также данный тест выявил снижение

двигательной активности, эмоциональности по сравнению с группой «обычное освещение».

4.7.3 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» выявлено незначительное сокращение латентного периода первого захода в темный отсек и времени нахождения животных в светлом отсеке через 2 часа и через 24 часа по сравнению с группой контрольных животных (Таблица 55).

Таблица 55 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Показатели	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
Латентный период первого захода, сек	16,7±2,6	18,2±4,9	16,0±3,3	31,2±2,9*
Латентный период захода через 2 часа, сек	118,8±1,2	96,1±12,8	89,3±12,7	104,5±10,3
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, сек	118,8±1,2	100,6±11,5	90,0±12,5	104,5±10,3
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, сек	1,2±1,2	19,4±11,5	30,0±12,5*	15,5±10,3
Латентный период захода через 24 часа, сек	84,1±15,2	52,3±15,8	82,7±15,2	94,3±11,8
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, сек	84,1±15,2	67,2±15,4	101,9±7,6*	94,5±11,7
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, сек	35,9±15,2	52,8±15,4	18,1±7,6	25,5±11,7
Процент обученных животных 2 ч	90%	70%	60%	80%
Процент обученных животных 24 ч	60%	30%	60%	60%
* – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение», критерий Манна-Уитни ($p \leq 0,05$)				

Процент обученных животных в данной группе уменьшился и составил через 2 часа –

70%, а через 24 часа – 30%. В случае изменения светового режима, через 1 месяц после окислительного давления, время латентного периода первого захода в темный отсек в группе постоянная темнота увеличивалось в 1,9 раза по сравнению с группой «обычное освещение». В группе «постоянное освещение +тиопентал натрия» выявлено незначительное сокращение латентного периода первого захода в темный отсек и времени нахождения животных в светлом отсеке через 2 часа после обучения. В данной группе время пребывания в светлом отсеке достоверно увеличилось на 51,6% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». Процент обученных животных в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» составил 60% через 2 часа и через 24 часа после обучения. В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» изменения носили сходный, но менее выраженный характер. Процент обученных животных в этой группе составил 80% через 2 часа и 60% через 24 часа после обучения.

Таким образом, качественные и количественные изменения исследуемых когнитивных показателей свидетельствуют о нарушениях высшей нервной деятельности как последствия перенесенного отравления, что подтверждается полученными нами ранее в исследованиях о дисбалансе показателей антиоксидантной системы, проявлениях гипоксии и апоптоза в клетках головного мозга [156]. Последствия «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза через 1 месяц приводят к достоверным изменениям в процессах обучения и воспроизведения информации. Достоверное увеличение латентного периода захода в темный отсек через 24 часа после обучения, преобладание времени нахождения в светлом отсеке камеры также свидетельствует о нарастании тревожности и страха животных, что обусловлено неспецифической оборонительной реакцией замирания.

4.7.4 Результаты исследований когнитивных функций крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в группе «обычное освещение+тиопентал натрия» выявлено незначительное сокращение латентного периода первого захода в темный отсек и времени нахождения животных в светлом отсеке через 2 часа и через 24 часа по сравнению с группой контрольных животных (Таблица 56). Процент обученных животных в данной группе уменьшился и составил через 2 часа – 90%, а через 24 часа – 70%. Анализ полученных данных выявил незначительные временные изменения регистрируемых показателей в группах с изменением светового режима через 3 месяца после «окислительного давления». Выявлено незначительное сокращение латентного периода первого

захода в темный отсек и времени нахождения животных в светлом отсеке через 2 часа и через 24 часа после обучения. Процент обученных животных в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» уменьшился и составил через 2 часа – 80%, а через 24 часа – 60%. Процент обученных животных в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» также уменьшился и составил 80% через 2 часа и 24 часа после обучения.

Таблица 56 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима

Показатели	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	Обычное освещение + тиопентал натрия	Постоянное освещение + тиопентал натрия	Постоянная темнота + тиопентал натрия
Латентный период первого захода, сек	69,3±12,3	60,3±16,9	73,4±15,9	90,3±12,3
Латентный период захода через 2 часа, сек	120,0±0,0	111,0±9,0	98,4±14,4	105,0±10,1
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, сек	120,0±0,0	119,7±0,3	111,8±7,0	107,3±8,6
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, сек	0±0	0,3±0,3	8,2±7,0	12,7±8,6
Латентный период захода через 24 часа, сек	120,0±0,0	100,1±11,6	82,8±15,4	103,3±11,5
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, сек	120,0±0,0	100,1±11,6	100,5±10,6	108,7±7,6
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, сек	0±0	19,9±11,6	19,5±10,6	11,3±7,6
Процент обученных животных 2 ч	100%	90%	80%	80%
Процент обученных животных 24 ч	100%	70%	60%	80%

Таким образом, показатели теста УРПИ через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и пребывания в условиях измененного светового режима отразили необходимость более длительного времени для извлечения информации с целью принятия решения, проявили нарушение процессов консолидации памяти, ускорение угасания рефлекса, а также снижение активности животных.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что при сочетанном

воздействии двух факторов существенное влияние на показатели теста УРПИ через 1 и 3 месяца исследования (Таблицы 57 - 60) оказывает режим освещения. Так, через 1 месяц наиболее чувствительным к постоянному освещению оказался показатель времени нахождения в темной камере через 24 часа после обучения (ФД=0,113). При отсутствии освещения чувствительность проявил показатель латентного периода первого захода в темный отсек (ФД=0,196).

Таблица 57 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели теста УРПИ через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ЛП0	0,0002	0,935	0,0002	0,935	0,005	0,665	0,994
ЛП2	0,059	0,133	0,031	0,269	0,007	0,613	0,903
СК2	0,046	0,185	0,045	0,188	0,003	0,728	0,906
ЛП24	0,019	0,402	0,015	0,455	0,039	0,225	0,928
СК24	0,001	0,814	0,029	0,286	0,056	0,145	0,912
ТК24	0,012	0,489	0,113	0,036*	0,012	0,489	0,863
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 58 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели теста УРПИ через 1 месяц эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ЛП0	0,008	0,559	0,196	0,005*	0,015	0,407	0,782
ЛП2	0,006	0,637	0,018	0,410	0,065	0,118	0,911
СК2	0,036	0,239	0,061	0,125	0,008	0,584	0,895
ЛП24	0,004	0,693	0,029	0,287	0,074	0,092	0,892
СК24	$4,43 \times 10^{-5}$	0,968	0,012	0,508	0,038	0,240	0,950
ТК24	$4,43 \times 10^{-5}$	0,968	0,012	0,508	0,038	0,240	0,950
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Через 3 месяца исследования когнитивных функций организма в условиях постоянного освещения чувствительность к режиму освещения проявили 2 показателя – время нахождения в

светлом отсеке через 2 часа после обучения ($\Phi Д=0,115$) и время латентного периода захода в темный отсек через 24 часа ($\Phi Д=0,125$) (Таблица 59).

Таблица 59 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянного освещения на показатели теста УРПИ через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛПО	0,009	0,542	0,003	0,743	0,040	0,223	0,946
ЛП2	$5,86 \times 10^{-5}$	0,962	0,086	0,071	0,014	0,462	0,900
СК2	0,029	0,261	0,115	0,030*	0,032	0,244	0,823
ЛП24	0,007	0,592	0,125	0,026*	0,023	0,331	0,845
СК24	0,018	0,397	0,039	0,221	0,041	0,206	0,901
ТК24	0,018	0,397	0,038	0,221	0,041	0,206	0,901
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Через 3 месяца в условиях длительной постоянной темноты показатель теста УРПИ – время нахождения в светлом отсеке через 2 часа после обучения проявил чувствительность к изменению режима освещения ($\Phi Д=0,104$). Также обращает внимание факт, что именно в режиме постоянной темноты через 3 месяца проявился эффект взаимодействия двух факторов. Три показателя примерно в равной степени выявили данный эффект: время латентного периода захода в темный отсек через 24 часа ($\Phi Д= 0,114$), время нахождения в светлом отсеке через 24 часа после обучения ($\Phi Д=0,145$) и на показателе времени нахождения в темном отсеке через 24 часа после обучения ($\Phi Д=0,145$) (Таблица 60).

Таблица 60 – Оценка влияния сочетанного воздействия «усиления окислительного давления» и постоянной темноты на показатели теста УРПИ через 3 месяца эксперимента (двухфакторный дисперсионный анализ)

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛПО	0,017	0,416	0,011	0,513	0,054	0,153	0,917

Продолжение Таблицы 60

Показатель	Фактор А отравление		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП2	0,007	0,602	0,039	0,227	0,007	0,602	0,945
СК2	0,001	0,939	0,104	0,048*	0,001	0,902	0,895
ЛП24	0,008	0,563	0,088	0,052*	0,114	0,028*	0,789
СК24	0,008	0,552	0,065	0,093	0,145	0,014*	0,783
ТК24	0,008	0,552	0,065	0,093	0,145	0,014*	0,783
* – Достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, анализ данных тестов «Открытое поле» и УРПИ показал, что повышенная двигательная активность и эмоциональное возбуждение через 1 месяц изменения светового режима и «усиления окислительного давления» – это реакции на внезапное и длительное изменение фактора внешней окружающей среды. Данные реакции являются фундаментальным свойством живого организма, обеспечивающие мобилизацию ресурсов (энергетических) для выживания и сохранения целостности организма. Возврат к древним неспецифическим формам поведения является противодействием возмущающему воздействию [29; 31; 75]. При увеличении длительности изменения светового режима (3 месяца) проявилось снижение двигательной активности животных, что способствует сохранению относительного уровня гомеостаза. Древние формы поведения (геномные), характерные для конкретного организма и память, сформировавшаяся в процессе индивидуального обучения, позволяют, с одной стороны, сохранять минимальные скорости роста уровня энтропии для поддержания термодинамической устойчивости организма, с другой стороны, продолжать жизнедеятельность организма при имеющихся ресурсах метаболизма [69; 75].

4.7.5 Обсуждение результатов оценки поведенческой активности крыс и их когнитивных функций при «усилении окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Характерной чертой животного типа организации жизни является способность организма изменять свои действия под влиянием внешних и внутренних условий. Это свойство имеет огромное приспособительное значение и позволяет уберечься от влияния негативных факторов окружающей среды. Активность – это состояние, которое характеризуется высоким уровнем взаимодействия с внешней средой, высоким уровнем метаболизма, выраженной

двигательной и другой активностью. Покой – это состояние, которое характеризуется низким уровнем такого взаимодействия [75].

Эволюционное развитие молекулярных механизмов циркадианных ритмов обеспечивает ритмическое чередование активности и покоя различных внутриклеточных процессов у различных организмов: от прокариот до представителей высших эукариот. Согласно основному положению эволюционной физиологии, старые формы проявления функций никуда не исчезают, сохраняются в скрытой форме и могут проявляться как одна из форм приспособления к неблагоприятным условиям окружающей среды или на фоне той или иной патологии ЦНС [69; 75].

Различаются типы поведенческих реакций по наличию или отсутствию поискового компонента. Под поиском понимается любая активность, направленная на изменение ситуации или ее поддержание, вопреки возмущающему воздействию, или на изменение отношения к ситуации при отсутствии достаточно высокого вероятностного прогноза положительных результатов такой активности. Поисковая активность обеспечивает оптимальное приспособление к меняющейся среде и ситуации, помогает преодолеть препятствия, определяет активную позицию и способствует выживаемости организма. Поэтому отказ от поиска является биологически вредным поведением. Поскольку поиск и отказ от поиска являются его фундаментальными характеристиками, в систему, регулирующую поведение, вовлечены многие мозговые структуры, новая кора, так как когнитивная оценка ситуации играет немаловажную роль в выборе типа поведения [27].

Известно, что формирование нейротрансмиттерной древней системы начинается на самых ранних этапах эмбриогенеза, морфогенеза тканей и органов. Созревание катехоламинергической системы, как и дофаминергической, в онтогенезе опережает созревание холин- и серотонинергических систем. Именно эти системы играют значительную роль в формировании и созревании коры мозга, дифференцировки нейробластов, в формировании дендритного дерева развивающихся нейронов, формировании синапсов, структурной и функциональной консолидации нервных элементов в системы [25; 26; 27; 31].

Различают пассивно-оборонительное поведение, к которому относят реакции избегания, «застывания» по типу каталепсии или кататонии с признаками страха и тревожного напряжения и активно-оборонительное поведение, к которому относится поиск активного выхода из ситуации, изменения самой ситуации, что у животных проявляется в активном двигательном поведении. Активно-оборонительные реакции блокируют развитие различных патологических процессов, а пассивно-оборонительные реакции усиливают их проявление. При пассивно-оборонительной реакции быстрее развивается разнообразная патология в ситуации

эмоционального стресса. Важным фактором в происхождении многих соматических заболеваний являются отрицательные эмоции (тревога, страх, гнев и т.д.). Адаптивное значение отрицательных эмоций заключается в быстрой оценке ситуации как неблагоприятной. За такой оценкой должно следовать поведение, направленное на избегание или активное изменение этой ситуации. Такие изменения требуют энергетического обеспечения, активации симпатoadrenalовой системы и вслед за этой мобилизацией наступает моторная реакция. Состояние обездвиженности типа каталепсии или кататонии у большинства представителей позвоночных, возникновение этого состояния на фоне различных раздражителей позволяют предположить, что функциональное значение этой системы состоит в обеспечении неспецифических реакций позвоночных на те или иные раздражители и является важнейшим элементов стресс-реакции [75]. У теплокровных в обеспечении стресс-реакции ведущую роль играют гормональные системы гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. В связи с этим поведенческие проявления состояния обездвиженности типа каталепсии или кататонии становятся более кратковременными и обнаруживаются только в начальной фазе развития стресса [15; 17; 48; 51; 75].

В проведенных тестах «Открытое поле» и УРПИ было выяснено, что при изменении светового режима после воздействия нейротоксикантов понижается ориентировочно-исследовательская активность животных, одновременно снижается эмоциональность, усиливается пассивно-оборонительное (астеническое) поведение, превалируют тормозные формы поведения, обездвиженность. Такая форма поведения, отказ от поиска негативно влияют на резистентность организма к патогенным факторам. Активация симпатoadrenalовой системы в рамках пассивно-оборонительного поведения не способствует повышению протективного эффекта, а наоборот, могут развиваться патологические процессы (аллергические реакции, инфаркты и т.д.). Развитию психосоматических заболеваний предшествует состояние психического «отказа», признания поражения. В последней трети 20 века накопилось много экспериментальных данных, которые подтверждают, что психические и физиологические процессы управляются биоритмами [48; 52; 53; 54]. Формирование сложных видов поведения и их организация во времени имеет двойственную природу. С одной стороны, изменение динамики биологических ритмов является первичным звеном, с другой стороны, управление поведением, изменяет ритм осцилляторов и одновременно, психотропные свойства двух подкорковых образований, гиппокампа и полосатого тела. Из всех форм психопатологии депрессивные расстройства имеют четкую временную организацию. Указанные нарушения зависят от деятельности супрахиазматических ядер гипоталамуса. Супрахиазматические ядра связаны не только со зрительным аппаратом, но и со структурами, участвующими в

формировании адаптивного приспособительного поведения. Супрахиазматические нейроны обладают рецепторами ко многим биологически активным соединениям и гормонам. Без гипоталамического ритмоводителя гиппокамп и полосатое тело перестанут поддерживать внутреннее сопряжение и нарушение обратных связей осцилляторных систем приведет к десинхронозу и возможно, к психодепрессивной патологии. Клиническая картина при депрессивных расстройствах включает симптомы тревоги, страха, потерю удовольствия, изменения аппетита, нарушения сна [138; 139]. Фармакологическая терапия депрессии включает селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, трициклические антидепрессанты, ингибиторы моноаминоксидазы, ингибиторы обратного захвата норадреналина. Это препараты воздействуют на системы моноаминовых нейротрансмиттеров для усиления передачи в синапсах, что предполагает важную роль моноаминоэргических систем в поведении, связанном с настроением. Антидепрессанты обладают хронотропной активностью. Они модифицируют все основные параметры циркадианных ритмов: положение акрофазы, амплитуду, происходит синхронизация околосуточной локомоции. Но эти препараты носят отсроченный клинический эффект, поэтому предположили, что эффективность этих препаратов связана с другой молекулярной мишенью [19; 20]. Один из возможных вариантов – это нейротрофический фактор BDNF. Отмечается, что при стрессе, депрессии концентрация белка снижается, при приеме антидепрессантов экспрессия данного белка увеличивается. Эксперименты, проведенные на животных, не имеющих данный белок, поддаются лечению антидепрессантами. Гиппокамп получает информацию от гипоталамо-гипофизарной оси, которая модулирует реакцию на стресс и играет важную роль в эмоциональном познании и развитии памяти [557].

При нарушении светового режима также нарушаются процессы фиксации информации, сохранения и ее воспроизведение. В основе данных нарушений лежит модификация эффективности синаптической передачи, нарушение нейропластичности. Для процессов формирования кратковременной памяти важны субъединичное строение и чувствительность рецепторов NMDA и AMPA к глутамат и ГАМК, различным психотропным веществам. Процессы фосфорилирования модулируют реакцию NMDA и AMPA- рецепторов, что запускает модификацию экспрессии генов, которая консолидирует потенциацию ответов и переводит в долговременную память. Нарушение ритма колебательных процессов, оксидативный стресс нарушают процессы запоминания, перевода кратковременной памяти в долговременную. По данным литературы, нарушению памяти способствует оксидативный стресс, который наблюдается при ряде нейродегенеративных заболеваниях (болезнь Паркинсона, Альцгеймера) и психических заболеваниях [232; 442].

На первом этапе проведенного исследования выявлено, что в условиях окислительного давления в эритроцитах и в тканях головного мозга крыс активные формы кислорода, благодаря высокой химической активности, способствовали проявлению эффекта взаимодействия клеточных редокс-осцилляторов с фактором изменения светового режима. В условиях постоянного освещения и постоянной темноты избыточные количества АФК привели к увеличению образования альдегидов и кетонов (МДА и ДК) в результате перекисного окисления фосфолипидов мембран эритроцитов и клеток головного мозга. Появление большого количества эндогенных электрофильных соединений способствует активации системы их удаления или нейтрализации. Согласно двухфакторному анализу такая активность выявлена для нуклеофильных центров пептида глутатиона. В эритроцитах, в условиях постоянной темноты кроме сульфгидрильных групп ВГ, такую активность проявил фермент глутатион-S-трансфераза. В тканях головного мозга повышается активность СОД и Г-6-ФДГ. С другой стороны, увеличение электрофильных соединений способствует синтезу молекул – активаторов сигнальной системы Keap1/Nrf2 – «сенсора» внутриклеточного изменения гомеостаза, транскрипционного белкового фактора PPAR γ – регулятора обмена в жировой ткани. Такими свойствами обладают катехоловые молекулы: дофамин, норадреналин, адреналин. Но эти молекулы обладают данными свойствами в наномолярной концентрации и в условиях эндогенного физиологического стресса. В условиях длительного хронического десинхронизма такой адаптивный ответ клеточной системы приводит к тиоловому дисбалансу, модификации нецелевых белков, содержащих SH-группы. Это вносит помехи в процессы внутриклеточной сигнальной трансдукции, стимулирует производство АФК, нарушению использования кислорода клетками, к нарушению энергопродуцирующих процессов, преобладанию нейродеструкции. Биохимические изменения между осцилляторами различных уровней циркадианной системы проявляются в нарушении двигательной реакции, эмоциональной активности и когнитивных навыков животных. Это дает основание предположить, что фармакологическая коррекция биохимических сдвигов в метаболизме осцилляторов позволит снизить степень внутреннего дисхронизма, независимо от изменения светового режима. Индикатором биохимических изменений в эндогенном звене биологических ритмов могут быть как молекулярно-биохимические показатели, так и поведенческие показатели.

ГЛАВА 5. ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КОРРЕКЦИИ СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА

За последние 10 лет был достигнут значительный прогресс в понимании генетики циркадианных часов млекопитающих. Доказательства транскрипционно-трансляционной петли обратной связи как модели молекулярного осциллятора внутри клеток, легли в основу знаний о молекулярном часовом механизме. Периферические часы, которые находятся практически во всех тканях тела, синхронизированы между собой, прежде всего через СХЯ гипоталамуса. Одновременно существует множество ответных элементов, например, в промоторах генов *per1* и *per2*, которые обеспечивают механизмы, с помощью которых внутри- и межклеточные сигналы могут «сбросить часы». Экспрессия и активность *Nrf2* регулируются *BMAL1* и *CK2*, соответственно, и антиоксидантным геном пероксиредоксином-6, поэтому часы играют важную роль в поддержании гомеостаза АФК в тканях [445; 502]. Одновременно, изменение баланса АФК вследствие светового десинхроноза приводит к развитию состояния гипоксии в тканях мозга, усиливается ПОЛ мембран эритроцитов, клеток мозга. Данные изменения способствуют нарушению энергообеспечения клеточных процессов, чувствительности к кислороду. Изменяется внутриклеточная и межклеточная сигнализация, что воздействует на автономную вегетативную нервную систему, секрецию катехоламинов, генерирование ритмов на периферии. В свою очередь, известно, что СХЯ гипоталамуса через регуляцию ритмической секреции глюкокортикоидов контролируют периферические часы [174; 175; 352; 372]. Многие из этих механизмов активируются ритмозадателями, отличными от цикла свет/темнота, и могут вызывать фазовые сдвиги в периферических тканях без сигналов от СХЯ, такими как, двигательная активность, пищевые привычки. В проведенном исследовании нарушение светового режима нарушало эмоциональное состояние животных, повышало уровень тревожности, агрессии, формирование когнитивных навыков.

Поэтому с учетом появления новых уровней иерархии и сложности мультиосцилляторной системы биологических часов должны быть изменены подходы к разработке средств фармакологической коррекции (синхронизации) центрального и периферических осцилляторов. Необходимо сосредоточить внимание не только на молекулярных процессах, но и на изменениях в поведении организма, так как сложные взаимодействия между циркадианными часами и обменом веществ, межклеточные связи способны индуцировать другие ритмы.

На сегодняшний день модуляция циркадианной системы мелатонином не способствует

синхронизации при длительном изменении светового режима [164]. Многие традиционные анксиолитики бензодиазепинового ряда отрицательно воздействуют на моторику и память [20]. Перспективным направлением считается использование нейропептидов орексинов, которые играют важную роль в регуляции сна и состояния бодрствования. В будущем применение агонистов орексиновых рецепторов в качестве стимуляторов может представлять интерес для краткосрочного поддержания физической и умственной работоспособности после трансмеридиального перелета [292; 375]. Исследований коррекции циркадианной аритмии пептидами, полученными из гипофиза Северного оленя, не проводилось. Использование синактонного механизма для регуляции биохимических и физиологических процессов в организме значительно расширяет регуляторный потенциал исходной молекулы и прокладывает путь к созданию новых медицинских препаратов с учетом индивидуальных особенностей организма и предотвращает возникновение неблагоприятных побочных эффектов [22].

Согласно данным литературы, при интраназальном способе введения субстанций большая часть веществ попадает в мозг крысы из носовой полости. Данный способ введения является неинвазивным, безболезненным, простым и удобным в применении [77].

5.1 Фармакологическая коррекция показателей АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс в условиях светового десинхроноза

5.1.1 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.

В Таблице 61 представлены данные группы с обычным освещением через 1 месяц после «усиления окислительного давления». Использование фармакологической коррекции приводит к уменьшению количества образования ДК и МДА. Применение KSE-02 уменьшило образование ДК в гемолизате эритроцитов на 32,3%, а количество МДА снизилось на 6,7% по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина достоверно снизило образование данных продуктов ПОЛ. Так количество ДК уменьшилось на 54,8 %, МДА - на 14,0% по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя также достоверно снизило образование ДК - на 32,3%, МДА – на 45,8% в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой.

Таблица 61 – Фармакологическая коррекция значений показателей АОС и процессов ПОЛ при обычном освещении через 1 месяц после «усиления окислительного давления»

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gHb	11,7±0,5	9,5±0,3#	10,7±0,3*	11,3±0,3*	11,2±0,3*
МДА, нмоль/ gHb	19,4±0,5	20,7±1,1	19,3±0,9	17,8±0,8*	11,2±0,3*
ДК, нмоль/ gHb	2,03±0,25	2,66±0,02#	1,8±0,3	1,2±0,2*	1,8±0,3*
СОД, U/gHb	3964,0±333,3	3364,8±196,1	4700±169,4*	5118,4±209,2*	4620,9±158,9*
ГТ, U/gHb	141,4±5,0	113,7±9,3#	122,0±8,5	157,8±21,2*	172,4±20,5*
ГП, U/gHb	32,7±1,0	31,7±0,5	32,3±1,7	34,9±1*	32,8±1,1
ГР, U/gHb	1,54±0,15	1,05±0,14#	1,4±0,1*	1,5±0,2*	1,4±0,1*
Г-6-ФДГ, U/gHb	11,3±1,4	8,4±0,5#	11,5±0,5*	10,8±1,1	10,8±0,7*

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)
– достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Сравнение этих результатов со значениями показателей группы интактных животных свидетельствует о положительном эффекте примененной фармакологической коррекции при обычном освещении, так как концентрации ДК и МДА в гемолизате эритроцитов леченых животных находятся в референтных интервалах показателей интактной группы. Активность ГТ достоверно повышается при использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина – на 38,7 %, и клеточного экстракта гипофиза – на 51,6%. Активность ГП достоверно повышается только при применении мелатонина на 10,1 %. Активность ГР достоверно повышается при применении всех трех вариантов фармакологической коррекции, KSE-02 - на 33,3%, мелатонин – на 42,8%, экстракта гипофиза – на 33,3%. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. Активность супероксиддисмутазной реакции достоверно повышается во всех трех случаях использования фармакологической коррекции. Так, использование KSE-02 - на 39,6%, мелатонина – на 52,1%, гипофиза – на 37,3% по сравнению с показателями контрольной группы. Активность фермента Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов крыс достоверно увеличивается в группах с использованием фармакологической коррекции KSE-02 и пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя. В первом случае на 36,9%, во втором случае – на 28,5% по сравнению с показателями контрольной группы. Концентрация ВГ достоверно повышается во всех вариантах

фармакологической коррекции. При использовании KSE-02 на 12,6%, мелатонина на 18,9%, пептидного экстракта гипофиза на 17,8% по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы, концентрация ВГ в группе контроля достоверно снижается на 18,8%. Таким образом, после однократного острого отравления в условиях обычного освещения применение фармакологической коррекции способствовало снижению концентрации ДК. Наибольший эффект оказал мелатонин. Применение KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя оказали одинаковое действие. При этом МДА, стабильного вторичного продукта ПОЛ при использовании пептидного экстракта гипофиза образуется значительно меньше, чем при применении двух других вариантов фармакологической коррекции. Возможно, это связано с тем, что ДК преобразуются через другой путь трансформации продуктов ПОЛ. Активность супероксиддисмутазы повышается при использовании всех субстанций для коррекции окислительно-восстановительного баланса в клетке, с целью поддержания баланса АФК. Особое значение в поддержании редокс-статуса клетки придается системе глутатиона. Концентрация ВГ при использовании фармакологической коррекции возрастает, приблизительно на одном уровне при применении мелатонина и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя. Это свидетельствует о повышенном расходовании внутриклеточного глутатиона для поддержания редокс-баланса. Активность ферментов обмена глутатиона, принимающие участие в антиоксидантной защите, ГП и ГТ, достоверно повысилась в результате использования мелатонина и значительно - при использовании клеточного экстракта гипофиза. ГП утилизирует перекиси полиненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов. ГТ также способна проявлять независимую пероксидазную активность и утилизировать избыток перекиси водорода, образующуюся при удалении избытка АФК супероксиддисмутазой. Интенсивное превращение восстановленного глутатиона в дисульфид результате глутатионпероксидазной реакции приводит к снижению соотношения восстановленного глутатиона к окисленному. Внутриклеточная концентрация глутатиона в 500-1000 раз превышает уровень $\text{НАДФ}^{+}\text{H}^{+}$. Основным источником $\text{НАДФ}^{+}\text{H}^{+}$ является пентозофосфатный путь окисления углеводов. При использовании фармакологической коррекции активность ГР и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы достоверно возрастает, достоверно в случае использования KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя [61].

Резюмируя вышеизложенное, можно констатировать успешное использование фармакологической коррекции последствий «усиления окислительного давления» в течение 14 дней через 1 месяц эксперимента при обычном освещении.

5.1.1.2 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» условиях обычного освещения и измененного светового режима.

В Таблице 62 представлены результаты фармакологической коррекции показателей АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при постоянном освещении. В группе с постоянным освещением через 1 месяц эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование только ДК в гемолизате эритроцитов на 31,2%, а количество МДА повысилось на 3,7% по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина снизило образование данных продуктов ПОЛ. Так, только количество ДК достоверно уменьшилось на 27,1%, а МДА – недостоверно - на 1,5% по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя также достоверно снизило образование ДК - на 11,8%, МДА – на 9,6% (незначимо) в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой. Активность ГТ достоверно повышается при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции, при применении KSE-02 на 52,1%, мелатонина – на 44,6%, и пептидного экстракта гипофиза – на 81,4%.

Таблица 62 – Фармакологическая коррекция значений показателей АОС и процессов ПОЛ через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gHb	10,2±0,3	8,7±0,1#	13,8±0,8*#	13,3±0,5*#	13,5±0,5*#
МДА, нмоль/ gHb	17,6±1,1	18,8±0,4	19,5±1,2	19,1±1,3	18,2±0,6
ДК, нмоль/ gHb	4,8±0,3	5,9±0,3#	4,0±0,1*	4,3±0,1*	5,2±0,1*
СОД, U/gHb	2832,3±214,4	2503±154,5	4112,2±232,4*#	3990,7±150,9#	4826,4±169,6*#
ГТ, U/gHb	103,7±4,3	89,3±3,6#	135,8±5,2*#	129,2±4,5*#	162±7,8*#
ГП, U/gHb	30,2±0,5	25,8±0,3#	28,0±1,2*	28,9±1,1*	31,8±1,1*
ГР, U/gHb	1,2±0,2	0,9±0,1	1,1±0,2	1,3±0,1	1,4±0,1*
Г-6-ФДГ, U/gHb	5,1±0,7	3,7±0,4#	10,1±0,8*#	7,7±0,6*#	7,4±1*#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при p ≤ 0,05; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при p ≤ 0,05; критерий Манна-Уитни)					

Активность ГП достоверно повышается при применении KSE-02 на 8,5 %, мелатонина

на 12,0 %, гипофиза – на 23,2 %. Активность ГР достоверно повышается при применении только пептидного экстракта гипофиза – на 55,5 %. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. Активность ГТ в результате фармакологической коррекции достоверно повысилась при сравнении с показателями интактной группы в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 увеличилась на 30,9 %, мелатонина – на 24,5 %, пептидного экстракта гипофиза - на 57,2 %. Активность супероксиддисмутазной реакции достоверно повышается во всех трех случаях использования фармакологической коррекции. Так, использование KSE-02 - на 64,2 %, мелатонина – на 59,4%, гипофиза – на 92,8% по сравнению с показателями контрольной группы. Активность СОД в результате фармакологической коррекции достоверно повысилась при сравнении с показателями интактной группы в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 увеличилась на 45,1%, мелатонина – на 40,9%, пептидного экстракта гипофиза - на 70,4%. Активность фермента Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов крыс достоверно увеличилась в группах с использованием фармакологической коррекции KSE-02 в 2,7 раза, мелатонина и пептидного экстракта гипофиза – в 2 раза по сравнению с показателями контрольной группы. Активность фермента Г-6-ФДГ достоверно повысилась при сравнении с показателями интактной группы в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 увеличилась на 55,2%, мелатонина – на 30,4%, пептидного экстракта гипофиза - на 32,3%. Концентрация ВГ достоверно повышается во всех вариантах фармакологической коррекции. При использовании KSE-02 на 58,6%, мелатонина на 52,8%, пептидного экстракта гипофиза на 55,2 % по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы, концентрация ВГ в группе контроля достоверно снижается на 14,7%, а в группах с фармакологической коррекцией достоверно увеличивается: при использовании KSE-02 на 35,2 %, мелатонина - на 30,4%, гипофиза – на 32,3%.

Использование фармакологической коррекции способствовало увеличению концентрации ВГ, увеличило активность ГТ и ГП, обеспечивающих баланс АФК в клетке. Выраженный эффект оказал пептидный экстракт гипофиза Северного оленя. Также активность фермента СОД гораздо выше при использовании фармакологической коррекции, чем при обычном освещении. Восстановление пула ВГ достоверно повышает активность фермента ГР на 55,5% по сравнению с контрольной группой при использовании пептидного экстракта гипофиза Северного оленя. Активность Г-6-ФДГ значительно повышается при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции.

В Таблице 63 представлены результаты фармакологической коррекции показателей АОС

и ПОЛ в гемолизате эритроцитов при постоянной темноте. В группе с постоянной темнотой через 1 месяц эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование ДК в гемолизате эритроцитов на 31,8%, а количество МДА понизилось на 27,4% по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина снизило образование данных продуктов ПОЛ. Так, достоверно уменьшилось количество ДК на 30,0%, а МДА – на 36,8% по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза северного оленя также достоверно снизило образование ДК - на 19,6%, МДА – на 12,1% в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой. Сравнение этих результатов со значениями показателей группы интактных животных показало, что достоверно снижаются показатели концентрации ДК и МДА с такой же тенденцией, как при сравнении с контрольной группой.

Таблица 63 – Фармакологическая коррекция значений показателей АОС и процессов ПОЛ через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gHb	13,2±0,8	10±0,3#	11,8±0,2*#	11,1±0,7*#	11,0±0,3*#
МДА, нмоль/ gHb	17,4±0,8	18,2±0,6	13,2±1,8*#	11,5±2,3*#	16,0±1,0*#
ДК, нмоль/ gHb	6,2±0,1	6,2±0,1	4,2±0,2*#	4,3±0,2*#	4,9±0,2*#
СОД, U/ gHb	3009,1±329,2	2684,6±168,9	4677,2±334,8*#	4628,8±140,9*#	4461,3±684,7*#
ГТ, Ед. U/ gHb	109,9±2	91,2±3,8#	141,7±6*#	148,1±7,3*#	151,9±3,3*#
ГП, U/ gHb	33,1±0,4	34,4±2,1#	34,8±1,1	35,8±0,7	41,6±3,4*#
ГР, U/ gHb	1,3±0,1	1,3±0,1	2,2±0,4*#	1,7±0,3	2,0±0,1*#
Г-6-ФДГ, U/ gHb	4,8±0,4	5,3±0,7	7,6±0,8*#	8,1±1,1*#	8,8±1,0*#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Активность ГТ достоверно повышается при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции, при применении KSE-02 на 55,3%, мелатонина – на 62,3%, и пептидного экстракта гипофиза – на 66,5% при сравнении с контрольной группой. При сравнении с интактной группой в случае использования KSE-02 достоверно увеличилась активность ГТ на 28,9%, при применении мелатонина - на 34,7%, при применении пептидного экстракта гипофиза - на 38,2%. Активность ГП достоверно повышается при применении

пептидного экстракта гипофиза – на 20,9% по сравнению с контрольной группой, и на 25,6% по сравнению с интактной группой. Активность ГР достоверно повышается при применении KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза, на 69,2% и на 53,8% соответственно. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. Активность супероксиддисмутазной реакции достоверно повышается во всех трех случаях использования фармакологической коррекции. Так, при использовании KSE-02 - на 74,4%, мелатонина – на 72,4%, гипофиза – на 66,2% по сравнению с показателями контрольной группы. Активность СОД в результате фармакологической коррекции достоверно повысилась при сравнении с показателями интактной группы в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции, при применении KSE-02 – увеличилась на 55,4%, мелатонина – на 53,8%, пептидного экстракта гипофиза - на 48,2%.

Активность фермента Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов крыс достоверно увеличилась в группах с использованием всех случаев фармакологической коррекции: KSE-02 на 43,4%, мелатонина на 52,8%, пептидного экстракта гипофиза на 66,0% по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения показателей активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с показателями интактной группы в результате фармакологической коррекции активность фермента достоверно повысилась в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 увеличилась на 58%, мелатонина – на 68,8%, пептидного экстракта гипофиза - на 83,3%. Концентрация ВГ достоверно повышается во всех вариантах фармакологической коррекции. При использовании KSE-02 на 18,0%, мелатонина на 11%, пептидного экстракта гипофиза на 10% по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы концентрация ВГ в группе контроля достоверно снижается на 24,2%, а в группах с фармакологической коррекцией достоверно увеличивается: KSE-02 - на 58,0%, мелатонина - на 68,8%, гипофиза – на 83,3%. В случае изменения светового режима на постоянную темноту и при использовании всех вариантов фармакологической коррекции значительно снижается концентрация ДК и МДА. Активность ГР значимо повышается при использовании KSE-02 и клеточного экстракта гипофиза. Активность Г-6-ФДГ повышается во всех трех случаях использования субстанций. Концентрацию ВГ наиболее эффективно повышает применение KSE-02.

5.1.2 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза

5.1.2.1 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения (Таблица 64).

В группе с обычным освещением через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полублужательной дозе использование фармакологической коррекции приводит к уменьшению количества образования ДК и МДА. Применение KSE-02 достоверно уменьшило образование ДК в гемолизате эритроцитов на 63,5%, а количество МДА снизилось на 43,6% по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина достоверно снизило образование данных продуктов ПОЛ. Так количество ДК уменьшилось на 59,2%, МДА - на 32,1% по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя также достоверно снизило образование ДК - на 49,7%, МДА - на 33,6% в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с показателями интактной группы концентрация ДК в контрольной группе достоверно повышается на 84,6%. Концентрации ДК и МДА в группах с фармакологической коррекцией достоверно снижаются. При применении KSE-02 уровень ДК снижается на 32,6%, мелатонина - на 24,6%, гипофиза - на 21,3% по сравнению с показателями интактной группы. При применении KSE-02 уровень МДА снижается на 41,5%, мелатонина - на 29,5%, пептидного экстракта гипофиза - на 31,1% по сравнению с показателями интактной группы. Активность ГТ достоверно повышается при использовании в качестве фармакологической коррекции KSE-02 - на 6,1% мелатонина - на 23,5%, и пептидного экстракта гипофиза - на 19,2%. Активность ГП достоверно не изменяется. Активность ГТ достоверно повышается при применении всех трех вариантов фармакологической коррекции, KSE-02 - на 84,2%, мелатонина - на 22,5%, экстракта гипофиза - на 4,5%. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы активность ГР достоверно изменяется во всех трех случаях. При применении KSE-02 активность фермента достоверно снижается на 91,2%, мелатонина - на 27,8%, экстракта гипофиза - на 32,7%. Активность супероксиддисмутазной реакции изменяется не однонаправленно во всех трех случаях использования фармакологической коррекции. Так, использование KSE-02 снижает активность фермента на 27,2%. Мелатонин и пептидный экстракт гипофиза повышают активность фермента, но достоверно только пептидный экстракт гипофиза - на 21,7% по сравнению с показателями

контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы активность СОД достоверно изменяется только в случае применения пептидного экстракта гипофиза – на 23,2%.

Таблица 64 – Фармакологическая коррекция значений показателей АОС и процессов ПОЛ через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gHb	10,6±0,3	10,7±0,3	10,6±0,3	11,1±0,3*	11,6±0,2*
МДА, нмоль/ gHb	18,3±2,2	19,3±2,1	10,8±1*#	12,9±0,3*#	12,4±0,9*#
ДК, нмоль/ gHb	1,5±0,4	2,7±0,2#	1,0±0,1*#	1,1±0,1*#	1,2±0,1*#
СОД, U/ gHb	4964,1±918,1	3270±533,2	2264,9±276,6	3942,5±853,2	3808,9±359,4*#
ГТ, U/ gHb	158,8±4,6	114,9±1,6#	121,9±3,9*	142,1±7,5*	137,4±4,8*
ГП, U/ gHb	33,7±1,3	34,9±0,2	35,3±0,7	34,4±0,7	36,5±1,8
ГР, U/ gHb	1,8±0,1	1,9±0,1	3,5±0,5*#	2,3±0,2*#	2,4±0,3*#
Г-6-ФДГ, U/ gHb	8,8±0,1	7,3±1,0#	7,8±0,4	9,1±0,3*	9,2±0,5*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Активность фермента Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов достоверно увеличивается в группах с использованием фармакологической коррекции мелатонина и пептидного экстракта гипофиза. В первом случае на 24,6%, во втором случае – на 26,0% по сравнению с показателями контрольной группы. При сравнении с показателем интактной группы активность фермента в контрольной группе достоверно снижается на 17,0%. Концентрация ВГ достоверно повышается при вариантах фармакологической коррекции, при использовании мелатонина – на 2,7%, экстракта гипофиза – на 7,4%. по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы достоверных изменений не наблюдается.

При использовании KSE-02 наблюдается на высоком уровне активность фермента ГР без достоверной активации фермента Г-6-ФДГ. Возможно, это связано с изменением сродства фермента ГР к субстрату – окисленному глутатиону. Концентрация ВГ достоверно возрастает при использовании в качестве фармакологической поддержки мелатонина и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя, на 3,7% и 8,4% соответственно по сравнению с

контрольной группой.

5.1.2.2 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.

В Таблице 65 представлены данные в группе с постоянным освещением. Через 3 месяца эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование только ДК в гемолизате эритроцитов на 80,5%, количество МДА на 59,0% по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина также снизило образование данных продуктов ПОЛ. Количество ДК достоверно уменьшилось на 42,5%, а МДА - на 27,5% по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя также достоверно снизило образование ДК - на 55,8%, МДА - на 51,7% в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой. При сравнении с показателями интактной группы концентрации ДК и МДА в группах с фармакологической коррекцией достоверно снижаются. При применении KSE-02 уровень ДК снижается на 24,6%, мелатонина - на 38,5%, гипофиза - на 52,7%. Уровень МДА достоверно снижается при применении KSE-02 на 25,6%, мелатонина на 24,4%, гипофиза - на 16,4% по сравнению с показателями интактной группы. Активность ГТ достоверно повышается при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции, при применении KSE-02 на 22,6%, мелатонина - на 13,9%, и пептидного экстракта гипофиза - на 13,0%. Активность ГП достоверно не изменяется. Активность ГР достоверно повышается: при применении KSE-02 - на 44,8%, мелатонина - на 50,0%, пептидного экстракта гипофиза - на 57,6%. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы значения показателей ГТ и ГР экспериментальных групп достоверно повышаются: при применении KSE-02 активность ГТ повышается на 10,7%, ГР - на 82,2%. В результате фармакологической коррекции мелатонином и пептидным экстрактом гипофиза достоверно повысилась активность ГР на 71,7% и на 98,0% соответственно при сравнении с показателями интактной группы.

Активность фермента Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов крыс достоверно увеличилась в группах с использованием фармакологической коррекции KSE-02 на 42,5%, мелатонином - на 82,9% и пептидным экстрактом гипофиза - на 93,6% по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с показателями интактной группы в результате фармакологической коррекции достоверно активность повысилась в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 активность увеличилась на 63,4%, мелатонина и пептидного экстракта гипофиза в 2 раза.

Таблица 65 – Фармакологическая коррекция значений показателей АОС и процессов ПОЛ через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ гHb	9,0±0,3	8,8±0,5	9,4±0,2	9,9±0,4	10,6±0,5
МДА, нмоль/ гHb	25,0±1,1	26,1±1,1	18,6±1,4*#	19,0±1,7*#	20,9±0,5*#
ДК, нмоль/ гHb	4,8±0,2	5,2±0,2	3,9±0,2*#	2,9±0,2*#	2,3±0,3*#
СОД, U/ гHb	2573,4±222,6	2981,8±233,3	3101,8±403,5	3562,4±397,8	3485±131,8
ГТ, U/ гHb	127,4±9,3	115,5±5,3	144,3±5,7*#	131,4±10,2	134,0±6,5*#
ГП, U/ гHb	42,7±1,8	41,6±3,2	36,3±0,6	36,5±0,1	36,5±0,9
ГР, U/ гHb	1,2±0,2	1,6±0,1	2,3±0,2*#	2,1±0,1*#	2,4±0,4*#
Г-6-ФДГ, U/ гHb	4,1±0,8	4,7±0,2	6,7±0,3*#	8,6±0,2*#	9,1±0,2*#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Таким образом, в условиях постоянного освещения значительно снижается в гемолизате эритроцитов концентрация ДК и МДА при использовании всех трех фармакологических субстанций. Данные изменения достоверны как по сравнению с контрольной группой, так и по сравнению с интактной группой. Также при использовании всех трех вариантов фармакологической поддержки наблюдается на высоком уровне активность фермента ГР по сравнению с контрольной группой. При сравнении с интактной группой - при использовании мелатонина и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя. Одновременно растет активность фермента Г-6-ФДГ во всех трех вариантах.

В Таблице 66 представлены данные по изменению показателей АОС и ПОЛ в группе постоянная темнота. В группе с постоянной темнотой через 3 месяца эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование ДК в гемолизате эритроцитов на 25,6%, количество МДА на 62,8% по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина достоверно уменьшило количество ДК на 40,7%, а МДА на 18,3% по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя также достоверно снизило образование ДК - на 45,1%, МДА – на 27,3% в гемолизате эритроцитов по сравнению с контрольной группой. При сравнении с показателями интактной группы концентрации ДК и МДА в группах с фармакологической коррекцией достоверно снижаются. При применении

KSE-02 уровень ДК снижается на 33,4%, мелатонина - на 48,2%, гипофиза – на 50,8%. Уровень МДА достоверно снижается при применении KSE-02 на 19,1%, мелатонина на 15,3%, гипофиза – на 24,5% по сравнению с показателями интактной группы.

Таблица 66 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ гHb	12,2±1,1	10,6±0,5	10,3±1,0	11±0,6	10,7±0,3
МДА, нмоль/ гHb	23,6±0,6	24,5±0,8	19,1±1,1*#	20,0±1,0*#	17,9±1,9*#
ДК, нмоль/ гHb	4,5±0,5	4,0±0,3	3,0±0,2*#	2,3±0,2*#	2,2±0,3*#
СОД, U/ гHb	2834,4±346,6	3341,7±622,9	3252,8±404,4	3680,6±201,3	3680,1±254,7
ГТ, U/ гHb	132,4±6,2	122,1±4,0	145,2±6,1*	145,2±4,5*	117,4±4,4
ГП, U/ гHb	41,5±1,2	44,2±2,5	35,2±1,4*#	33,7±0,6*#	34,0±0,4*#
ГР, U/ гHb	1,4±0,2	1,3±0,1	1,9±0,3*#	2,4±0,2*#	2,5±0,3*#
Г-6-ФДГ, U/ гHb	7,4±0,4	5,6±0,3#	8,2±0,6*#	9,3±0,3*#	9,5±0,4*#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Активность ГТ достоверно повышается при использовании двух вариантов фармакологической коррекции, при применении KSE-02 на 18,5%, мелатонина – на 21,2%. Активность ГП достоверно понижается при использовании всех вариантов фармакологической коррекции. Применение KSE-02 понижает активность фермента на 20,4%, мелатонин на 23,7%, пептидного экстракта гипофиза - на 23,1% по сравнению с показателями контрольной группы. Активность ГР достоверно повышается по сравнению с показателями контрольной группы: при применении KSE-02 - на 51,2%, мелатонина - на 88,2%, пептидного экстракта гипофиза - в 2 раза. В случае сравнения с показателями интактной группы значения показателей ГП и ГР экспериментальных групп изменяются разнонаправленно. Так, достоверно снижается активность ГП: при применении KSE-02 на 15,1%, мелатонина – на 18,8%, пептидного экстракта гипофиза - на 18,1%. Активность ГР наоборот, достоверно повышается – на 40,1% в результате фармакологической коррекции KSE-02, мелатонином – на 74,4% и пептидным экстрактом гипофиза - на 91,9%. Активность фермента Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов крыс

увеличилась в группах с использованием фармакологической коррекции KSE-02 на 46,4%, мелатонином – на 66,1% и пептидным экстрактом гипофиза – на 69,6% по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения активности Г-6-ФДГ с показателями интактной группы в результате фармакологической коррекции активность фермента достоверно повысилась в случае использования всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 активность увеличилась на 10,8%, мелатонина - на 25,6%, и пептидного экстракта гипофиза – на 28,3%. Активность фермента в контрольной группе снизилась на 24,3% при сравнении с активностью фермента в интактной группе. Через три месяца после острого однократного отравления в условиях постоянной темноты значительно снижается в гемолизате эритроцитов концентрация ДК И МДА при использовании всех трех фармакологических субстанций. Данные изменения достоверны как по сравнению с контролем, так и по сравнению с интактной группой. Активность ГТ достоверно повысилась при использовании мелатонина и его сукционильного производного KSE-02. Также при использовании всех трех вариантов фармакологической поддержки наблюдается на высоком уровне активность фермента ГР по сравнению с контрольной группой. Одновременно выросла активность фермента Г-6-ФДГ во всех трех вариантах.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что эффект, оказанный KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс значительный (Таблица 67).

Согласно факторам детерминации выявлено существенное воздействие на активность СОД (ФД= 0,639), Г-6-ФДГ (ФД=0,534), ГТ (ФД= 0,351) и на концентрацию ВГ (ФД= 0,454). Эффект взаимодействия (фармкоррекция KSE-02 и постоянное освещение) на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц проявился на показателях ВГ (ФД=0,245), ГТ(ФД=0,170). В случае режима освещения постоянная темнота согласно факторам детерминации выявлено существенное воздействие на активность СОД (ФД=0,693), Г-6-ФДГ (ФД=0,241), ГТ (ФД=0,366) и на концентрацию ВГ (ФД=0,353). Значимый эффект взаимодействия двух факторов отразился на показателе ГТ (ФД=0,189) (Таблица 68).

Таблица 67 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,454	7,65x10 ⁻⁶ *	0,046	0,071	0,245	0,003*	0,254
МДА	0,008	0,684	0,043	0,334	0,068	0,230	0,882
ДК	0,178	7,76x10 ⁻⁶ *	0,699	1,773x10 ⁻¹⁰ *	0,022	0,047*	0,100
СОД	0,639	1,15x10 ⁻⁷ *	0,155	0,008*	0,005	0,464	0,199
ГТ	0,351	0,0009*	0,013	0,458	0,170	0,013*	0,465
ГП	0,039	0,194	0,514	9,26x10 ⁻⁵ *	0,013	0,440	0,433
ГР	0,113	0,093	0,151	0,054*	0,010	0,605	0,725
Г-6-ФДГ	0,534	8,85x10 ⁻⁸ *	0,229	3,154x10 ⁻⁵ *	0,074	0,006*	0,161

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Таблица 68 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,353	0,001*	0,084	0,084	0,055	0,156	0,507
МДА	0,180	0,010*	0,314	0,001*	0,052	0,145	0,454
ДК	0,178	5,55x10 ⁻⁷ *	0,727	4,12x10 ⁻¹² *	0,027	0,011*	0,068
СОД	0,693	3,24x10 ⁻⁷ *	0,031	0,129	0,027	0,155	0,248
ГТ	0,366	0,001*	0,001	0,841	0,189	0,009*	0,445
ГП	0,005	0,730	0,135	0,091	9,59x10 ⁻⁵	0,962	0,859
ГР	0,239	0,007*	0,162	0,023*	0,055	0,168	0,542
Г-6-ФДГ	0,241	0,001*	0,460	1,81x10 ⁻⁵ *	0,004	0,619	0,294

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс значительный. Согласно факторам детерминации выявлено существенное воздействие на активность СОД (ФД= 0,621), Г-6-ФДГ (ФД=0,241), ГТ (ФД= 0,332) и на концентрацию ВГ (ФД=0,605). Эффект взаимодействия (фармкоррекция мелатонином и постоянное освещение) на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 1 месяц проявился на показателях ВГ (ФД=0,178) (Таблица 69).

Таблица 69 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,605	$2,279 \times 10^{-7*}$	0,011	0,323	0,178	0,0004*	0,206
МДА	0,083	0,160	0,006	0,708	0,135	0,076	0,776
ДК	0,177	$1,335 \times 10^{-7*}$	0,765	$4,305 \times 10^{-13*}$	$3,95 \times 10^{-8}$	0,997	0,056
СОД	0,621	$8,93 \times 10^{-9*}$	0,234	$1,211 \times 10^{-5*}$	0,004	0,449	0,141
ГТ	0,332	0,002*	0,132	0,037	0,001	0,863	0,535
ГП	0,168	0,001*	0,610	$3,598 \times 10^{-7*}$	$7,37 \times 10^{-6}$	0,979	0,221
ГР	0,245	0,014*	0,073	0,156	0,0001	0,949	0,681
Г-6-ФДГ	0,271	0,001*	0,439	$1,384 \times 10^{-5*}$	0,020	0,229	0,269
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс также значительный. Согласно факторам детерминации выявлено существенное воздействие на активность СОД (ФД=0,782), Г-6-ФДГ (ФД=0,208), ГТ (ФД= 0,434) и на концентрацию ВГ (ФД=0,254), МДА (ФД=0,289). Эффект освещения повлиял на показатели МДА (ФД=0,236), ДК (ФД=0,760), Г-6-ФДГ (ФД=0,284). Эффекта взаимодействия при использовании мелатонина в условиях постоянной темноты не выявлено (Таблица 70).

Таблица 70 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,254	0,016*	$8,64 \times 10^{-6}$	0,987	0,003	0,792	0,744
МДА	0,289	0,002*	0,236	0,004*	0,041	0,183	0,434
ДК	0,199	$2,71 \times 10^{-9}$ *	0,760	$1,38 \times 10^{-14}$ *	0,002	0,352	0,039
СОД	0,782	$1,1 \times 10^{-9}$ *	0,078	0,003*	0,002	0,589	0,138
ГТ	0,434	0,001*	0,044	0,204	0,007	0,604	0,514
ГП	0,129	0,082	0,080	0,164	0,019	0,480	0,771
ГР	0,171	0,049*	0,046	0,291	$2,99 \times 10^{-5}$	0,978	0,782
Г-6-ФДГ	0,208	0,009*	0,284	0,003*	0,003	0,743	0,505

* – Достоверность при $p \leq 0,05$

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс фармакологический эффект значимо проявился на показателях СОД (ФД=0,776), ГТ (ФД=0,568), ВГ (ФД=0,584) (таблица 71). Эффект взаимодействия фактора освещенности и фармакологической коррекции проявился на показателях ВГ (ФД=0,196), МДА(ФД=0,139), ГП(ФД=0,135).

Таблица 71 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,584	$2,472 \times 10^{-7}$ *	0,019	0,190	0,196	0,001*	0,201
МДА	0,265	0,007*	0,01	0,547	0,139	0,041*	0,585
ДК	0,049	0,002*	0,871	$2,69 \times 10^{-12}$ *	0,001	0,647	0,078
СОД	0,776	$6,53 \times 10^{-10}$ *	0,026	0,057	0,069	0,004*	0,128

Продолжение Таблицы 71

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ГТ	0,568	2,52x10 ⁻⁵ *	0,039	0,164	0,006	0,566	0,384
ГП	0,278	0,001*	0,276	0,001*	0,135	0,008*	0,309
ГР	0,333	0,001*	0,014	0,503	0,237	0,394	0,628
Г-6-ФДГ	0,245	0,001*	0,473	7,83x10 ⁻⁶ *	0,015	0,305	0,266

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс фармакологический эффект значимо проявился на показателях СОД (ФД=0,434), ГТ (ФД=0,532), Г-6-ФДГ (ФД= 0,318), ВГ (ФД=0,335), МДА (ФД=0,331). Эффект освещения повлиял на показатели ДК (ФД=0,848), Г-6-ФДГ (ФД=0,264), ГП (ФД=0,222). Эффекта взаимодействия при использовании пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в условиях постоянной темноты не выявлено (Таблица 72).

Таблица 72 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,335	0,005*	0,00021	0,937	0,006	0,685	0,658
МДА	0,331	0,002*	0,114	0,051	0,023	0,361	0,532
ДК	0,085	5,16x10 ⁻⁵ *	0,848	5,68x10 ⁻¹³ *	0,002	0,429	0,064
СОД	0,434	0,001*	0,033	0,271	0,013	0,491	0,520
ГТ	0,532	4,68x10 ⁻⁵ *	0,069	0,077	0,0002	0,927	0,398
ГП	0,114	0,065	0,222	0,013*	0,628	0,163	0,600
ГР	0,134	0,083	0,035	0,365	0,021	0,476	0,809
Г-6-ФДГ	0,318	0,001*	0,264	0,002*	0,016	0,378	0,402

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Через 3 месяца эксперимента двухфакторный дисперсионный анализ выявил эффект KSE-02 на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при постоянном освещении на показателях МДА (ФД=0,401), ДК (ФД=0,209), ГТ (ФД=0,137).

Эффект взаимодействия фармакологической коррекции и режима освещения выявлен на показателе ГТ (ФД= 0,413) (Таблица 73).

Таблица 73 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,015	0,438	0,489	0,0002*	0,026	0,308	0,471
МДА	0,401	$2,33 \times 10^{-5}$ *	0,329	$7,64 \times 10^{-5}$ *	0,002	0,723	0,267
ДК	0,209	$1,00 \times 10^{-7}$ *	0,722	$2,4 \times 10^{-12}$ *	0,005	0,229	0,064
СОД	0,056	0,258	0,022	0,478	0,091	0,155	0,831
ГТ	0,137	$3,86 \times 10^{-9}$ *	0,421	$1,65 \times 10^{-13}$ *	0,413	$1,95 \times 10^{-13}$ *	0,028
ГП	0,070	0,162	0,169	0,036*	0,094	0,107	0,665
ГР	0,070	0,152	0,169	0,036*	0,090	0,107	0,670
Г-6-ФДГ	0,128	0,037*	0,309	0,002*	0,051	0,171	0,511
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект KSE-02 на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс через 3 месяца при постоянной темноте выявлен на показателях МДА (ФД=0,365), ДК (ФД=0,338), Г-6-ФДГ (ФД=0,207). Эффект освещения повлиял на показатели МДА (ФД= 0,343), ДК (ФД=0,489), Г-6-ФДГ (ФД=0,264), ГП (ФД=0,222). Эффект взаимодействия фармакологической коррекции KSE-02 в условиях постоянной темноты выявлен на показателе ГТ (ФД= 0,958), ГР (ФД=0,210), ГП (ФД=0,210) (Таблица 74).

Таблица 74 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,007	0,711	0,008	0,682	0,003	0,822	0,982
МДА	0,365	4,75 x 10 ^{-5*}	0,343	6,81 x 10 ^{-5*}	0,018	0,261	0,274
ДК	0,338	1,75 x 10 ^{-6*}	0,489	1,15 x 10 ^{-7*}	0,019	0,125	0,153
СОД	0,056	0,265	0,052	0,280	0,039	0,349	0,852
ГТ	0,017	4,81 x 10 ^{-5*}	0,012	0,0002*	0,958	2,18 x 10 ^{-20*}	0,0125
ГП	0,176	0,008*	0,200	0,005*	0,210	0,005*	0,413
ГР	0,176	0,008*	0,200	0,005*	0,210	0,005*	0,413
Г-6-ФДГ	0,207	0,021*	0,032	0,333	0,106	0,087	0,655
Примечание – * – достоверность при p ≤ 0,05							

Эффект мелатонина в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при постоянном освещении через 3 месяца выявлен на показателях МДА (ФД=0,352), ДК (ФД=0,407), Г-6-ФДГ (ФД=0,484), ГР (ФД=0,945), ГТ (ФД=0,315). Эффект освещения наиболее существенно повлиял на показатели ВГ (ФД=0,391), МДА (ФД=0,315), ДК (ФД=0,507). Значимого эффекта взаимодействия фармакологической коррекции мелатонином и режима постоянного освещения не выявлено (Таблица 75).

Таблица 75 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,093	0,064	0,391	0,001*	0,029	0,281	0,485
МДА	0,352	0,0002*	0,315	0,0003*	0,001	0,814	0,331
ДК	0,407	1,27 x 10 ^{-9*}	0,507	1,89 x 10 ^{-10*}	0,013	0,070	0,073

Продолжение Таблицы 75

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
СОД	0,059	0,271	0,017	0,553	0,0003	0,934	0,923
ГТ	0,315	0,005*	0,017	0,474	0,021	0,424	0,646
ГП	0,088	0,112	0,222	0,015*	0,059	0,186	0,632
ГР	0,945	1,44 x 10 ⁻¹⁵ *	0,008	0,061	0,009	0,047*	0,038
Г-6-ФДГ	0,484	1,78 x 10 ⁻⁵ *	0,141	0,007*	0,066	0,050*	0,309
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект мелатонина в дозе 100 мкг/кг на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при постоянной темноте через 3 месяца выявлен на показателях МДА (ФД=0,297), ДК (ФД=0,530), Г-6-ФДГ (ФД=0,512), ГР (ФД=0,450), ГТ (ФД=0,522). Эффект освещения наиболее существенно повлиял на показатели МДА (ФД= 0,382), ДК (ФД=0,310), ГТ (ФД=0,211), ГР (ФД=0,400). Значимый эффект взаимодействия фармакологической коррекции мелатонином и режима постоянной темноты выявлен для показателей ГТ (ФД=0,237), ГП (ФД=0,232), ГР (ФД=0,118) (Таблица 76).

Таблица 76 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,034	0,414	0,001	0,874	0,000	0,924	0,964
МДА	0,297	0,0003*	0,382	7,68x10 ⁻⁵ *	0,009	0,449	0,312
ДК	0,530	8,41 x 10 ⁻⁸ *	0,310	4,21x10 ⁻⁶ *	0,001	0,764	0,158
СОД	0,034	0,409	0,001	0,876	0,004	0,784	0,961
ГТ	0,522	3,86x10 ⁻¹⁴ *	0,211	1,56x10 ⁻¹⁰ *	0,237	5,66x10 ⁻¹¹ *	0,029
ГП	0,280	0,0004*	0,169	0,004*	0,232	0,001*	0,318
ГР	0,450	2,42x10 ⁻¹³ *	0,400	7,23x10 ⁻¹³ *	0,118	3,17x10 ⁻⁸ *	0,031

Продолжение Таблицы 76

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Г-6-ФДГ	0,512	4,96x10 ^{-5*}	0,041	0,163	0,059	0,094	0,387
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при постоянном освещении через 3 месяца выявлен на показателях ВГ (ФД=0,239), МДА (ФД=0,286), ДК (ФД=0,503), Г-6-ФДГ (ФД=0,502), ГР (ФД=0,944), ГТ (ФД=0,463). Эффект освещения наиболее существенно повлиял на показатели ВГ (ФД=0,301), МДА (ФД= 0,449), ДК (ФД=0,344). Значимого эффекта взаимодействия фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя и режима постоянного освещения не выявлено (Таблица 77).

Таблица 77 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,239	0,003*	0,301	0,001*	0,033	0,226	0,426
МДА	0,286	0,0001*	0,449	9,32x10 ^{-6*}	0,006	0,517	0,259
ДК	0,503	4,83x10 ^{-9*}	0,344	1,03x10 ^{-7*}	0,047	0,007*	0,106
СОД	0,097	0,150	0,033	0,389	0,0001	0,959	0,869
ГТ	0,463	0,0005*	0,002	0,781	0,004	0,692	0,530
ГП	0,032	0,361	0,113	0,095	0,113	0,096	0,742
ГР	0,944	1,89x10 ^{-15*}	0,008	0,056	0,009	0,050*	0,039
Г-6-ФДГ	0,502	1,74x10 ^{-5*}	0,098	0,022*	0,079	0,037*	0,319
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс при постоянной темноте через 3 месяца выявлен на показателях МДА (ФД=0,378), ДК (ФД=0,529), Г-6-ФДГ (ФД=0,496), ГР (ФД=0,949), ГТ (ФД=0,413). Эффект освещения наиболее существенно повлиял на показатели ГТ (ФД=0,383), МДА (ФД= 0,233), ДК (ФД=0,257). Значимый эффект взаимодействия фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя и режима постоянной темноты выявлен на показателях ГТ (ФД=0,183), ГП (ФД=0,306) (Таблица 78).

Таблица 78 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,068	0,208	0,074	0,192	0,043	0,316	0,814
МДА	0,378	0,0003*	0,233	0,002	0,0001	0,939	0,388
ДК	0,529	$6,74 \times 10^{-7}$ *	0,257	$7,56 \times 10^{-5}$ *	0,004	0,539	0,209
СОД	0,042	0,357	0,001	0,952	0,002	0,832	0,955
ГТ	0,413	$9,66 \times 10^{-15}$ *	0,383	$1,97 \times 10^{-14}$ *	0,183	$1,94 \times 10^{-11}$ *	0,020
ГП	0,167	0,011*	0,103	0,039	0,306	0,001*	0,423
ГР	0,949	$5,32 \times 10^{-18}$ *	0,015	0,001*	0,015	0,001*	0,022
Г-6-ФДГ	0,496	$8,69 \times 10^{-5}$ *	0,031	0,238	0,059	0,104	0,413
* – Достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, через 1 месяц эксперимента выявлено, что сукциноильное производное мелатонина KSE-02 в дозе 100 мкг/кг проявило антиоксидантный эффект, увеличивая активность ферментов СОД, ГТ, Г-6-ФДГ. Восстановление пула ВГ способствовало поддержанию тиоловой буферной системы в условиях хронического светового десинхроноза. Выявленное воздействие KSE-02 на показатели АОС в гемолизате эритроцитов в разных режимах освещения свидетельствуют о его хронобиотической активности. Препарат сравнения мелатонин в той же дозировке также проявил значительную антиоксидантную активность в разных режимах освещения. В частности, в отношении ферментов СОД, ГТ, Г-6-ФДГ. Эффект взаимодействия с режимом освещения мелатонин проявил только в условиях постоянного

освещения, что отличает его хронобиотический эффект от KSE-02.

Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении через 1 месяц изменения светового режима проявил антиоксидантную активность. Выявленные позитивные изменения показателей ферментативного звена антиоксидантной защиты, таких как СОД, ГТ, Г-6-ФДГ. У животных опытных подгрупп данная активность способствовала поддержанию в красных клетках крови достаточной концентрации восстановленного глутатиона, что при нарушении условий внешнего режима освещения способствовало сохранению клеточного редокс-баланса. Эффект взаимодействия с режимом освещения пептидный экстракт гипофиза Северного оленя через 1 месяц эксперимента проявил только в условиях постоянного освещения, что отличает его хронобиотический эффект от KSE-02.

Через 3 месяца антиоксидантный эффект KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при постоянном освещении на показатели АОС и ПОЛ сохранился. Эффект взаимодействия с разными световыми режимами остался, но усилился эффект при взаимодействии данной субстанции с режимом освещения «постоянная темнота». Особенно выделяется влияние этого эффекта на ГТ (ФД=0,958). Препарат сравнения мелатонин также сохраняет свою антиоксидантную активность в течение 3 месяцев светового десинхроноза. Но эффект взаимодействия проявился только при световом режиме «постоянная темнота». Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг оказал антиоксидантную активность через 3 месяца эксперимента, особенно выделяется влияние на активность ГР. Эффект взаимодействия проявился при световом режиме постоянная темнота.

Исследованные субстанции в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении проявили хронобиотическую активность в разных режимах освещения. Выделяется их действие на показатель ВГ и активность ГТ в гемолизате эритроцитов.

5.2 Изменений показателей АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс в условиях хронического светового десинхроноза при фармакологической коррекции

5.2.1. Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза

В группе с обычным освещением через 1 месяц после «усиления окислительного давления» использование фармакологической коррекции приводит к уменьшению количества образования ДК и МДА в головном мозге животных. Результаты представлены в Таблице 79.

Таблица 79 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gP	2,4±0,1	2,2±0,1	2,2±0,03	2,2±0,05	2,1±0,1
МДА, нмоль/ gP	178,9±4,2	196,4±3,9#	157,2±4,3*#	140,4±5,8*#	176,5±3,7*
ДК, нмоль/ gP	96,2±1,4	99,1±1,3	91,2±1,7	92,6±1,9	91,6±1,3
СОД, U/gP	71,0±4,1	71,8±4,8	81,9±5,3*#	61,4±4,5x	69,0±3,5
ГТ, U/gP	333,7±6,6	265,5±10,8#	296,1±5,9#	291,3±5,3#	287,2±7,6#
ГП, U/gP	1,3±0,1	1,1±0,2	1,2±0,1	1,2±0,8	1,2±0,1
ГР, U/gP	64,9±5,4	32,7±2,6#	80,9±3,5*#	70,4±4,2*	55,5±4,6*
Г-6-ФДГ, U/gP	58,9±5,9	58,7±2,5	50,8±4,2	53,3±3,3	53,2±1,1
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Применение KSE-02 уменьшило образование ДК в гомогенате тканей головного мозга на 8 %, а количество МДА достоверно снизилось на 19,9 % по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина снизило образование данных продуктов ПОЛ. Так количество ДК уменьшилось на 6,5 %, МДА - на 28,7 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя также снизило образование ДК - на 7,6%, МДА – на 10,2 % ($p \leq 0,05$) в гомогенате тканей головного мозга крыс по сравнению с контрольной группой. Сравнение этих результатов со значениями показателей группы интактных животных свидетельствует о положительном эффекте примененной фармакологической коррекции при обычном освещении. Так концентрации ДК в гомогенате тканей головного мозга леченых животных находятся в референтных интервалах показателей интактной группы. Концентрация МДА достоверно снизилась: при использовании KSE-02 на 12,2 %, мелатонина на 21,8 %. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя достоверного эффекта не обнаружил. Активность ГТ достоверно изменяется при сравнении со значениями показателей интактной группы. При использовании KSE-02 снизилась на 11,4 %, при использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина – на 12,8 %, и пептидного экстракта гипофиза – на 14,1 %. Активность фермента в контрольной группе достоверно ниже

значения показателя в интактной группе на 20,5 %. Активность ГП достоверных изменений не проявила. Активность ГР достоверно повышается при применении всех трех вариантов фармакологической коррекции, KSE-02 – в 2,5 раза, мелатонина – в 2,2 раза экстракт гипофиза – на 64,7 %. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателями интактной группы при использовании KSE-02 активность ГР достоверно увеличилась на 24,6 %. Активность СОД реакции достоверно повышается в случае использования фармакологической коррекции KSE-02, на 12,8 %. В случае использования мелатонина активность СОД достоверно снижается на 14,5 % по сравнению с показателями контрольной группы.

В Таблице 80 представлены результаты фармакологической коррекции значений показателей АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс при постоянном освещении. В группе с постоянным освещением через 1 месяц эксперимента применение фармакологической коррекции достоверно снизило количество МДА: при использовании KSE-02 на 15,0 %, мелатонина - на 16,9 %, пептидного экстракта гипофиза – на 16,4 % по сравнению с контрольной группой. Изменение показателей ДК недостоверно.

Таблица 80 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gP	2,4±0,1	2,05±0,1	2,22±0,1	2,22±0,1	2,19±0,1
МДА, нмоль/ gP	224,6±3,6	226,3±5,5	191,7±4,7*#	187,7±5,5*#	189±4,3*#
ДК, нмоль/ gP	104,5±1,0	110,5±3,5	100,9±0,9	101,4±1,9	99,1±1,2
СОД, U/gP	88,3±5,7	90,7±3,1	83,0±3,9	73,0±3,0#	65,9±4,4*#
ГТ, U/gP	303,0±8,9	236,5±6,8#	266,4±11,9#	276,6±10,7*#	261,1±9,2#
ГП, U/gP	1,1±0,1	0,95±0,04	1,07±0,04	1,08±0,04	1,1±0,1
ГР, U/gP	74,6±3,6	40,3±2,4#	73,2±2,2*	78,0±5,1	62,0±4,3*
Г-6-ФДГ, U/gP	48,5±1,3	44,1±1,7	55,3±1,7#	55,4±2,7*#	56,3±3,7*#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при p ≤ 0,05; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при p ≤ 0,05; критерий Манна-Уитни)					

Активность ГТ достоверно повышается при использовании только одного варианта фармакологической коррекции, при применении KSE-02 активность фермента достоверно увеличилась на 16,9 % по сравнению с показателями контрольной группы. Достоверно изменилась активность ГР. При применении KSE-02 активность фермента повысилась на 82,5%, при применении мелатонина - на 95,0 %, гипофиза – на 55,0 %. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. Активность супероксиддисмутазной реакции достоверно понижается в случаях использования фармакологической коррекции мелатонина – на 19,5 %, пептидного экстракта гипофиза – на 27,3 % по сравнению с показателями контрольной группы. Активность СОД в результате фармакологической коррекции достоверно понизилась при сравнении с показателями интактной группы в случае использования этих же вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 - на 17,5 %, мелатонина – на 25,1 %. Активность фермента Г-6-ФДГ в гомогенате тканей головного мозга достоверно увеличивается в группах с использованием фармакологической коррекции KSE-02 и мелатонином на 25,6 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 27,6 % по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с показателями интактной группы в результате фармакологической коррекции активность фермента достоверно повысилась при использовании всех вариантов фармакологической коррекции. При применении KSE-02 увеличилась на 14,0 %, мелатонина – на 14,2 %, пептидного экстракта гипофиза - на 16,1 %.

В Таблице 81 представлены результаты фармакологической коррекции значений показателей АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга крыс при постоянной темноте. В группе с постоянной темнотой через 1 месяц эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование МДА на 14,3 %, использование мелатонина - на 14,2 %, пептидного экстракта гипофиза – на 12,9 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация МДА в контрольной группе достоверно снизилась на 16,0 % по сравнению со значением показателя в группе интактных животных. Концентрация ДК в гомогенате тканей головного мозга экспериментальных крыс находится в пределах референтных интервалов интактных крыс. Активность ГТ достоверно повышается при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции, при применении KSE-02 на 18,2 %, мелатонина – на 16,4 %, и пептидного экстракта гипофиза – на 17,3 %. Активность глутатионредуктазы достоверно повышается при применении KSE-02 на 97,1 %. Мелатонин повышает активность ГР в 2 раза, применение пептидного экстракта гипофиза – на 40,8 %. Все данные изменения сравнивались с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателем интактной группы активность ГР в контрольной группе снижалась на 46,4 %.

Таблица 81 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gP	2,4±0,1	2,1±0,1	2,3±0,04	2,3±0,1	2,3±0,1
МДА, нмоль/ gP	186,9±3,7	216,3±6,6#	185,9±5,2	185,6±9,4	188,2±7,5
ДК, нмоль/ gP	99,3±1,5	104,5±1,2	100,5±1,8	99,4±1,3	97,6±1,5
СОД, U/gP	83,0±3,6	84,3±4,8	78,9±4,0	67,9±5,5	70,2±5,7*#
ГТ, U/gP	294,1±8,4	231,7±9,9#	273,6±8,0*	269,0±12,1*	271,4±9,5*
ГП, U/gP	1,07±0,03	0,90±0,03	1,10±0,01	1,1±0,1	1,1±0,1
ГР, U/gP	66,7±4,0	35,7±0,8#	69,2±3,0*	73,9±2,9*	50,3±2,6*
Г-6-ФДГ, U/gP	47,3±2,1	41,2±3,6	53,1±1,9*	53,2±2,9*	51,1±2,6*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Активность СОД реакции достоверно понижается в случае использования пептидного экстракта гипофиза на 16,4 % по сравнению с показателем контрольной группы. Активность СОД в контрольной группе достоверно снизилась на 15,4 % по сравнению с показателями интактной группы. Активность фермента Г-6-ФДГ достоверно увеличивается в группах с использованием всех случаев фармакологической коррекции: KSE-02 на 29,2 %, мелатонина - на 29,7 %, пептидного экстракта гипофиза на 24,0 % по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения показателей активности фермента с интактной группой, активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в группах с фармакологической коррекцией несколько выше, но недостоверно.

5.2.2 Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и процессов ПОЛ в головном мозге крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного и светового десинхроноза

В Таблице 82 представлены результаты фармакологической коррекции значений показателей АОС и ПОЛ в гомогенате тканей мозга крыс после «усиления окислительного

давления» и фармакологической коррекции при обычном освещении через 3 месяца эксперимента. Через 3 месяца эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование МДА в тканях мозга крыс на 14,2 %, использование мелатонина - на 18,7 %, пептидного экстракта гипофиза – на 25,9 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация ДК в гомогенате тканей головного мозга экспериментальных крыс находится в пределах референтных интервалов интактных крыс.

Таблица 82 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/gP	2,12±0,10	1,97±0,20	2,04±0,22	2,23±0,07	2,21±0,09
МДА, нмоль/gP	183,6±5,7	204,4±3,3	175,4±7,3*	165,7±5,7*	151,0±13,4*
ДК, нмоль/gP	99,1±1,1	102,6±0,7	100,3±1,0	97,4±1,0	98,8±0,9
СОД, U/gP	78,8±6,0	58,9±5,9#	63,1±8,8	76,7±6,6*	77,2±5,2*
ГТ, U/gP	306,1±16,1	258,1±11,5#	260,9±19,5#	301,6±11,8*	275,3±14,0#
ГП, U/gP	1,92±0,07	1,66±0,10	1,77±0,11	2,23±0,15*	2,11±0,18*
ГР, U/gP	49,9±5,5	41,8±3,2	44,5±1,6	56,9±4,9*	49,7±2,6
Г-6-ФДГ, U/gP	48,2±2,8	44,3±2,4	45,2±3,2	49,6±3,4	53,1±3,1*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Активность ГТ достоверно повышается при использовании фармакологической коррекции мелатонином на 16,0 % по сравнению с показателем контрольной группы. Два других варианта фармакологической коррекции проявили достоверную значимость при сравнении с показателями интактной группы. При применении KSE-02 активность фермента снизилась на 15,0 %, при использовании пептидного экстракта гипофиза активность ГТ снизилась на 10,1 %. Активность ГП достоверно повышается при использовании мелатонина, на 34,3 %, а при применении экстракта гипофиза - на 27,1 % по сравнению с показателями контрольной группы. Мелатонин достоверно повышает активность ГР на 36,1 % по сравнению с контрольной группой. Активность супероксиддисмутазной реакции достоверно повышается в

случае использования мелатонина, на 30,2 %, пептидного экстракта гипофиза на 31,1 % по сравнению с показателем контрольной группы. Активность СОД в контрольной группе достоверно снизилась на 25,3% по сравнению с показателями интактной группы.

Активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ) в достоверно увеличивается в группе с использованием пептидного экстракта гипофиза на 19,8 % по сравнению с показателями контрольной группы. Концентрация ВГ достоверно не изменяется во всех опытных группах животных.

В Таблице 83 представлены результаты фармакологической коррекции значений показателей АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс при постоянном освещении через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе и проведенной фармакологической коррекции.

Таблица 83 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gP	1,91±0,05	1,56±0,06	2,07±0,09*	2,12±0,06*	2,21±0,07*
МДА, нмоль/ gP	202,2±4,8	209,1±4,3	177,6±5,4*#	173,8±5,2*#	178,7±5,6*#
ДК, нмоль/ gP	102,6±0,8	104,1±1,2	98,3±0,5	94,3±1,1	101,4±0,7
СОД, U/gP	56,7±3,1	48,7±1,9	60,4±4,8*	72,2±6,1*	67,8±4,9*
ГТ, U/gP	247,4±12,4	223,3±9,7	254,8±14,6	276,1±13,3	269±11,6
ГП, U/gP	2,31±0,09	2,05±0,06	1,87±0,11	2,24±0,14	2,21±0,1
ГР, U/gP	64,4±4,6	58,0±3,3	46,2±3,3#	50,9±5,5#	47,4±3,4#
Г-6-ФДГ, U/gP	35,9±2,0	36,9±2,8	46,1±2,6	44,4±1,7*#	47,5±3,1
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

В группе с постоянным освещением через 3 месяца эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование МДА на 15,3 %, применение мелатонина – на 16,7 %, клеточного экстракта гипофиза северного оленя – на 14,8 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с показателями интактной группы концентрации МДА в группах с

фармакологической коррекцией достоверно снижаются. При применении KSE-02 уровень МДА снижается на 12,3 %, мелатонина - на 14,3 %, гипофиза – на 11,9 %. Активность ГР достоверно понижается: при применении KSE-02 - на 28,2 %, мелатонина - на 20,9 %, экстракта гипофиза – на 26,3 %. Все данные изменения сравнивались с показателями интактной группы. Значения показателей ГТ и ГР экспериментальных групп достоверных изменений активности не проявили. Активность супероксиддисмутазной реакции повышается во всех трех случаях использования фармакологической коррекции. При применении KSE-02 - на 24,0 %, при использовании мелатонина – на 48,2 %, пептидного экстракта гипофиза – на 39,2 % по сравнению с показателями контрольной группы.

Активность фермента Г-6-ФДГ достоверно увеличивается в группе с использованием фармакологической коррекции мелатонином – на 20,3 % по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с показателями интактной группы в результате фармакологической коррекции мелатонином активность достоверно повысилась на 23,6 %. Концентрация ВГ достоверно повысилась во всех вариантах фармакологической коррекции, при использовании KSE-02 на 32,6 %, мелатонина на 35,8 %, пептидного экстракта гипофиза на 41,1 % по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения с показателем интактной группы концентрация ВГ в группе контроля достоверно не изменяется.

В Таблице 84 представлены результаты фармакологической коррекции значений показателей АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс при постоянной темноте через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе и проведенной фармакологической коррекции. В группе с постоянной темнотой через 3 месяца эксперимента применение KSE-02 достоверно уменьшило образование МДА на 11,2 %, мелатонина - на 15,8 %, пептидного экстракта гипофиза – на 14,3 % по сравнению с контрольной группой. Активность ГТ достоверно повышается при использовании только при фармакологической коррекции пептидным экстрактом гипофиза, на 15,9 % по сравнению с показателями контрольной группы. Активность супероксиддисмутазной реакции достоверно повышается в двух случаях использования фармакологической коррекции, а именно, при использовании KSE-02 на 92,4 %, мелатонина – на 33,9 % по сравнению с показателями контрольной группы. Активность фермента Г-6-ФДГ достоверно увеличивается в группе с использованием фармакологической коррекции пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя – на 36,9 % по сравнению с показателями контрольной группы. В случае сравнения активности фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы с показателями интактной группы в результате фармакологической коррекции клеточным экстрактом гипофиза активность фермента

достоверно повысилась на 35,8 % . Концентрация ВГ достоверно изменяется при использовании всех вариантов фармакологической коррекции. При использовании KSE-02 – на 33,7 %, мелатонина – на 20,1 %, пептидного экстракта гипофиза северного оленя - на 24,8 % по сравнению с показателями контрольной группы.

Таблица 84 – Фармакологическая коррекция показателей АОС и процессов ПОЛ в тканях головного мозга крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
ВГ, мкмоль/ gP	1,94±0,08	1,69±0,07	2,26±0,09*	2,03±0,11*	2,11±0,07*
МДА, нмоль/ gP	201,5±4,3	203,1±4,4	180,5±3,9*	171,1±5,9*	174,9±5,8*
ДК, нмоль/ gP	100,7±1,2	102,1±0,6	96,4±1,4	92,3±1,4	98,8±1,2
СОД, U/gP	53,5±3,7	50,1±2,2	96,4±1,4*	67,1±4,8*	61,5±7,4
ГТ, U/gP	257,0±6,3	226,9±12,1	248,4±5,7	281,1±9,8	262,8±15,7*
ГП, U/gP	2,26±0,07	2,19±0,1	2,01±0,07	2,31±0,09	2,32±0,09
ГР, U/gP	62,7±3,3	57,2±5,2	49,2±2,7	49,8±4,3	50,3±3,1
Г-6-ФДГ, U/gP	37,4±1,1	37,1±2,5	44,2±3,8	45,6±1,3	50,8±3,2*#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что через 1 месяц при постоянном освещении после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 и последующей фармкоррекцией KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении весомый вклад в развитие эффекта в тканях мозга внесли значения следующих показателей МДА (ФД=0,505), ДК (ФД=0,311), ГТ (ФД=0,315), ГП (ФД=0,181), но самый большой вклад в развитие эффекта внес фермент ГР (ФД=0,912). Эффект взаимодействия проявился на ферменте Г-6-ФДГ (ФД=0,421) (Таблица 85).

Таблица 85 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,100	0,132	0,018	0,514	0,062	0,232	0,819
МДА	0,505	$5,53 \times 10^{-9}$ *	0,384	$50,3 \times 10^{-8}$ *	0,002	0,545	0,108
ДК	0,311	$5,36 \times 10^{-5}$ *	0,446	$5,69 \times 10^{-6}$ *	0,002	0,621	0,238
СОД	0,003	0,733	0,229	0,011*	0,18	0,021	0,586
ГТ	0,315	0,001*	0,296	0,001*	$3,91 \times 10^{-5}$	0,964	0,387
ГП	0,181	0,007*	0,401	0,001*	0,009	0,495	0,406
ГР	0,912	$5,94 \times 10^{-14}$ *	$2,21 \times 10^{-6}$	0,977	0,032	0,002*	0,054
Г-6-ФДГ	0,012	0,468	0,115	0,035*	0,421	0,001*	0,451
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 и последующей фармкоррекцией KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении весомый вклад в развитие эффекта в тканях мозга внесли значения следующих показателей МДА (ФД=0,558), ДК (ФД=0,227), ГТ (ФД=0,411), ГП (ФД=0,308). Самый значительный эффект оказал фермент ГР (ФД=0,905). Эффект взаимодействия проявился на показателе активности Г-6-ФДГ (ФД=0,334) и концентрации ДК (ФД=0,335) (Таблица 86).

Таблица 86 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,185	0,030	0,001	0,898	0,128	0,067	0,685
МДА	0,558	$6,07 \times 10^{-8}$ *	0,272	$1,06 \times 10^{-5}$ *	0,009	0,301	0,160
ДК	0,227	$8,72 \times 10^{-13}$ *	0,419	$2,6 \times 10^{-15}$ *	0,335	$2,24 \times 10^{-14}$ *	0,018

Продолжение Таблицы 86

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
СОД	0,013	0,558	0,057	0,234	0,156	0,054	0,771
ГТ	0,411	$7,22 \times 10^{-5}*$	0,247	0,001*	0,010	0,446	0,331
ГП	0,308	0,0001*	0,348	$6,31 \times 10^{-5}*$	0,068	0,037*	0,274
ГР	0,905	$7,38 \times 10^{-14}*$	0,010	0,068	0,029	0,003*	0,055
Г-6-ФДГ	0,013	0,444	0,195	0,008*	0,334	0,001*	0,455
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании препарата сравнения мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения весомый вклад в развитие эффекта в тканях мозга внесли значения следующих показателей МДА (ФД=0,536), ДК (ФД=0,261), СОД (ФД=0,283), ГТ (ФД=0,412), ГР (ФД=0,516). Эффект взаимодействия проявился на показателе активности Г-6-ФДГ (ФД=0,267) (Таблица 87).

Таблица 87 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,060	0,243	0,004	0,746	0,097	0,142	0,837
МДА	0,536	$6,07 \times 10^{-10}*$	0,356	$1,84 \times 10^{-8}*$	0,018	0,050*	0,088
ДК	0,261	0,0004*	0,431	$3,0 \times 10^{-5}*$	0,007	0,499	0,300
СОД	0,283	0,001*	0,337	0,0002*	0,037	0,155	0,341
ГТ	0,412	0,0001*	0,181	0,006*	0,019	0,329	0,386
ГП	$3,01 \times 10^{-5}$	0,979	0,007	0,687	0,074	0,218	0,918
ГР	0,516	$4,48 \times 10^{-5}*$	0,085	0,047*	0,014	0,387	0,383
Г-6-ФДГ	0,002	0,789	0,007	0,660	0,267	0,013*	0,723
*– достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании препарата сравнения мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты значимый вклад в развитие эффекта в тканях мозга те же показатели, что и при постоянном освещении (Таблица 88).

Таблица 88 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,114	0,088	0,015	0,513	0,156	0,048*	0,713
МДА	0,507	$1,41 \times 10^{-7}$ *	0,286	$8,36 \times 10^{-6}$ *	0,043	0,031*	0,162
ДК	0,341	$7,02 \times 10^{-5}$ *	0,377	$3,9 \times 10^{-5}$ *	0,005	0,524	0,274
СОД	0,273	0,005*	0,127	0,046*	0,026	0,319	0,569
ГТ	0,319	0,001*	0,253	0,002*	0,01	0,489	0,416
ГП	0,001	0,885	0,025	0,459	0,082	0,188	0,891
ГР	0,566	$2,2 \times 10^{-5}$ *	0,040	0,154	0,017	0,343	0,374
Г-6-ФДГ	0,001	0,856	0,033	0,341	0,255	0,014*	0,709
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Факторы детерминации, определяющие вклад каждого показателя в общий итог следующие МДА (ФД=0,507), ДК (ФД=0,341), СОД (ФД=0,273), ГТ (ФД=0,319), ГР (ФД=0,566). Эффект взаимодействия проявился на также показателе активности Г-6-ФДГ (ФД=0,255), а также добавился показатель концентрации ВГ (ФД=0,156) (Таблица 88).

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения существенный вклад в развитие антиоксидантного эффекта внесли показатели МДА (ФД=0,511), ДК (ФД=0,372), СОД (ФД=0,323), ГТ (ФД=0,232), ГП (ФД=0,173). Выделяется вклад фермента ГР (ФД=0,688). Взаимодействия фактора освещенности и фармакологической коррекции проявилось на значениях показателей СОД (ФД=0,205) и Г-6-ФДГ (ФД=0,382) (Таблица 89).

Таблица 89 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,002	0,813	$3,01 \times 10^{-5}$	0,979	0,143	0,081	0,854
МДА	0,511	$1,3 \times 10^{-7}$ *	0,279	$9,47 \times 10^{-6}$ *	0,046	0,025*	0,161
ДК	0,372	$1,9 \times 10^{-5}$ *	0,372	$1,9 \times 10^{-5}$ *	0,014	0,278	0,240
СОД	0,323	0,0004*	0,106	0,025*	0,205	0,003*	0,364
ГТ	0,232	0,003*	0,329	0,001*	0,001	0,839	0,437
ГП	0,173	0,030*	0,172	0,031*	0,011	0,564	0,642
ГР	0,688	$2,79 \times 10^{-7}$ *	0,069	0,026*	0,0003	0,859	0,241
Г-6-ФДГ	0,055	0,111	0,163	0,009*	0,382	0,0002*	0,398
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

В условиях постоянной темноты существенный вклад в развитие антиоксидантного эффекта внесли показатели МДА (ФД=0,453), ДК (ФД=0,486), СОД (ФД=0,158), ГТ (ФД=0,330), ГП (ФД=0,284). Выделяется вклад фермента ГР (ФД=0,720) значительно более существенный, как и в режиме постоянного освещения. Взаимодействия фактора освещенности и фармакологической коррекции проявилось на значениях показателей ВГ (ФД=0,183) и Г-6-ФДГ (ФД=0,234) (Таблица 90).

Таблица 90 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,013	0,567	0,018	0,500*	0,183	0,042*	0,784
МДА	0,453	$4,45 \times 10^{-5}$ *	0,196	0,002*	0,012	0,390	0,336
ДК	0,486	$1,39 \times 10^{-6}$ *	0,300	$3,32 \times 10^{-5}$ *	0,001	0,750	0,212

Продолжение Таблицы 90

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
СОД	0,158	0,041*	0,103	0,093	0,071	0,159	0,666
ГТ	0,330	0,001*	0,215	0,004*	0,028	0,261	0,420
ГП	0,284	0,001*	0,256	0,002*	0,042	0,168	0,416
ГР	0,720	$2,09 \times 10^{-7}$ *	0,002	0,659	0,034	0,108	0,242
Г-6-ФДГ	0,019	0,307	0,383	0,0001*	0,234	0,001*	0,362
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, через 1 месяц исследования в тканях мозга использованные соединения проявили значительную антиоксидантную активность. Выделяется вклад фермента ГР, фермента, необходимого для поддержания пула ВГ. Эффект взаимодействия с режимом освещения проявили все субстанции, и связано это с активностью фермента Г-6-ФДГ во всех режимах освещения.

Через 3 месяца в условиях постоянного освещения фармкоррекция KSE-02 в дозе 100 мкг/кг оказала эффект на меньшем количестве показателей. Факторы детерминации МДА (ФД=0,702), ДК (ФД=0,535), СОД (ФД=0,109), Г-6-ФДГ (ФД=0,164) (Таблица 91).

Обращает внимание, что наибольший эффект соединения связан с показателями ПОЛ. Эффект взаимодействия проявился в показателях ДК (ФД=0,106) и Г-6-ФДГ (ФД=0,195).

Таблица 91 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А		Фактор В		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,168	0,035*	0,072	0,153	0,098	0,099	0,660
МДА	0,702	$8,61 \times 10^{-7}$ *	0,009	0,432	0,001	0,779	0,286
ДК	0,535	$2,26 \times 10^{-5}$ *	0,002	0,729	0,106	0,023*	0,355
СОД	0,109	0,112	0,071	0,195	0,024	0,442	0,794
ГТ	0,080	0,158	0,114	0,096	0,056	0,234	0,749

Продолжение Таблицы 91

Показатель	Фактор А		Фактор В		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ГП	0,006	0,648	0,296	0,005*	0,096	0,088	0,600
ГР	0,076	0,073	0,298	0,001*	0,195	0,006*	0,429
Г-6-ФДГ	0,164	0,036*	0,068	0,163	0,108	0,084	0,657
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

В Таблице 92 отражены факторы детерминации, определяющие вклад показателей АОС и ПОЛ в тканях мозга при фармакоррекции KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты. В условиях постоянной темноты существенный вклад в развитие антиоксидантного эффекта внесли показатели МДА (ФД=0,657), ДК (ФД=0,427), СОД (ФД=0,125), ВГ (ФД=0,202). Взаимодействия фактора освещенности и фармакологической коррекции не проявилось.

Таблица 92 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,202	0,023*	0,002	0,803	0,124	0,069	0,672
МДА	0,657	$3,5 \times 10^{-6}$ *	0,003	0,646	0,010	0,436	0,328
ДК	0,427	$8,58 \times 10^{-7}$	0,136	0,011*	0,080	0,045*	0,355
СОД	0,125	0,093	0,033	0,374	0,032	0,379	0,808
ГТ	0,048	0,272	0,158	0,054	0,028	0,393	0,764
ГП	0,005	0,630	0,503	$9,0 \times 10^{-5}$ *	0,068	0,086	0,422
ГР	0,024	0,347	0,346	0,002*	0,099	0,066	0,529
Г-6-ФДГ	0,098	0,119	0,104	0,109	0,056	0,229	0,74
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

В Таблице 93 отражены факторы детерминации, определяющие вклад показателей АОС

и ПОЛ в тканях мозга при фармакоррекции препаратом сравнения - мелатонином в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения.

Таблица 93 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,390	0,0002*	0,158	0,010*	0,055	0,111	0,396
МДА	0,800	$6,35 \times 10^{-9}$ *	0,023	0,114	0,001	0,668	0,174
ДК	0,733	$2,37 \times 10^{-8}$ *	0,007	0,370	0,070	0,012*	0,187
СОД	0,482	0,0001*	0,061	0,113	0,008	0,533	0,447
ГТ	0,458	$5,94 \times 10^{-5}$ *	0,179	0,005*	0,004	0,631	0,357
ГП	0,353	0,001*	0,095	0,054	0,088	0,064	0,462
ГР	0,038	0,270	0,062	0,163	0,295	0,005*	0,602
Г-6-ФДГ	0,232	0,008*	0,223	0,009*	0,006	0,630	0,537
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Существенный вклад в развитие антиоксидантного эффекта внесли показатели МДА (ФД=0,800), ДК (ФД=0,733), СОД (ФД=0,482), ВГ (ФД=0,390), ГП (ФД=0,353), Г-6-ФДГ (ФД=0,232). Взаимодействия фактора освещенности и фармакологической коррекции проявилось на показателе ГР (ФД=0,295).

В условиях постоянной темноты в течение 3 месяцев мелатонин оказал существенный антиоксидантный эффект. Особенно это выражено в значениях таких показателей, как МДА (ФД=0,785), ДК (ФД=0,680), СОД (ФД=0,409), ГТ (ФД=0,497). Эффект взаимодействия проявился в показателях ГП (ФД=0,119) и ГР (ФД=0,299) (Таблица 94).

Таблица 94 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,255	0,007*	0,165	0,026*	0,005	0,670	0,573
МДА	0,786	2,67x10 ⁻⁸ *	0,002	0,622	0,007	0,414	0,203
ДК	0,680	1,01x10 ⁻⁸ *	0,097	0,002*	0,065	0,008*	0,156
СОД	0,409	0,0005*	0,113	0,040*	0,0002	0,925	0,476
ГТ	0,497	3,7x10 ⁻⁵ *	0,139	0,011*	0,005	0,570	0,357
ГП	0,270	0,001*	0,212	0,003*	0,119	0,023*	0,397
ГР	0,034	0,306	0,040	0,269	0,299	0,005*	0,625
Г-6-ФДГ	0,286	0,003*	0,189	0,013*	0,014	0,462	0,509
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Значительный антиоксидантный эффект оказал пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения. Наиболее значимый вклад внесли показатели МДА (ФД=0,593), ДК (ФД=0,409), ВГ (ФД=0,416), СОД (ФД=0,469), Г-6-ФДГ (ФД=0,382). Значимое взаимодействие эффектов- фармакологической коррекции и светового режима проявилось на показателе ГР (ФД=0,358) (Таблица 95).

Таблица 95 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ВГ	0,416	0,0001*	0,089	0,047*	0,092	0,044*	0,402
МДА	0,593	0,98x10 ⁻⁶ *	0,088	0,019*	0,044	0,084	0,272
ДК	0,409	0,0003*	0,163	0,010*	0,010	0,491	0,416
СОД	0,469	0,0001*	0,127	0,021*	0,0002	0,911	0,403

Продолжение Таблицы 95

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ГТ	0,284	0,004*	0,121	0,045*	0,058	0,154	0,534
ГП	0,252	0,005*	0,165	0,020*	0,057	0,152	0,524
ГР	0,013	0,450	0,149	0,021*	0,358	0,001*	0,477
Г-6-ФДГ	0,382	0,001*	0,169	0,012*	0,003	0,706	0,445
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты оказал существенное воздействие на показатели МДА (ФД=0,601), ДК (ФД=0,554), ВГ (ФД=0,312), Г-6-ФДГ (ФД=0,486). Значимое взаимодействие эффектов - фармакологической коррекции и светового режима проявилось на показателе ГР (ФД=0,187) (Таблица 96).

Таблица 96 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели АОС и ПОЛ в тканях мозга крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ВГ	0,312	0,003*	0,101	0,071	0,025	0,347	0,559
МДА	0,601	$3,17 \times 10^{-6}$ *	0,046	0,092	0,057	0,062	0,295
ДК	0,554	$6,54 \times 10^{-5}$ *	0,003	0,717	0,002	0,717	0,439
СОД	0,280	0,003*	0,189	0,013*	0,014	0,457	0,515
ГТ	0,191	0,025*	0,129	0,060*	0,023	0,404	0,655
ГП	0,180	0,010*	0,305	0,001*	0,054	0,138	0,459
ГР	0,0007	0,874	0,216	0,013*	0,187	0,020*	0,595
Г-6-ФДГ	0,486	$8,74 \times 10^{-5}$ *	0,085	0,053	0,022	0,301	0,405
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, через 3 месяц светового десинхроноза в тканях мозга использованные

соединения проявили значительную антиоксидантную активность в дозе дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении. Обращает внимание, что максимально выраженный фармакологический эффект вещества оказали на реакции ПОЛ. Эффект взаимодействия с режимом освещения связан с активностью фермента ГР во всех режимах освещения.

5.3 Активность ферментов энергетического обмена в головном мозге и в плазме крови крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции

5.3.1 Результаты фармакологической коррекции активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга ФЕПК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхроноза

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения активность креатинкиназы в головном мозге крыс контрольной группы достоверно повысилась на 13,2 % по сравнению с интактной группой (Таблица 97).

Применение мелатонина способствовало достоверному понижению активности КК на 16,7 %, пептидный экстракт гипофиза Северного оленя также достоверно понизил активность данного фермента на 10,7 % по сравнению с контрольной группой. Активность ЛДГ достоверно повышается на 13,1 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование мелатонина достоверно понижает активность ЛДГ на 15,8 % по сравнению с контрольной группой. Активность Na⁺,K⁺-АТФазы достоверно повышается при использовании KSE-02 на 22,1 %, при использовании мелатонина – на 30,7 % по сравнению с контрольной группой. Одновременно в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное повышение концентрации HIF1 α на 50,3 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование фармакологической коррекции достоверно понижает концентрацию данного фактора, так применение KSE-02 понижает на 18,9 %, пептидного экстракта гипофиза – на 16,5 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой применение KSE-02 понижает концентрацию HIF1 α на 20,8 %, использование мелатонина – 28,7 %, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 22,4 %. Активность фермента ФЕПК в контрольной группе достоверно повысилась на 98,9 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно понизило активность данного фермента. Применение KSE-02 понизило на 52,2 %, мелатонина – на 48,8 %, пептидного экстракта гипофиза - на 55,2 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация транскрипционного фактора PPAR γ в плазме крови контрольных животных достоверно

понижилась на 47,1 % по сравнению с интактной группой. Использование средств фармакологической коррекции достоверно повышает концентрацию этого фактора. Применение KSE-02 повышает на 63,7 %, мелатонина – на 54,4 %, пептидного экстракта гипофиза – на 70,6 % по сравнению с контрольной группой.

Таблица 97 – Фармакологическая коррекция активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс и ФЕПКК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M \pm m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
В головном мозге					
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	273,3 \pm 8,1	309,2 \pm 7,4#	289,5 \pm 7,6	257,0 \pm 8,2*	276,2 \pm 10,1*
Лактатдегидрогеназа, Ед.акт./г белка	25,4 \pm 0,9	28,7 \pm 0,9#	27,0 \pm 1,7	24,1 \pm 1,2*	26,2 \pm 1,1
Na ⁺ , K ⁺ -АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	4,2 \pm 0,6	3,8 \pm 0,4	4,5 \pm 0,2*	4,9 \pm 0,6*	3,7 \pm 0,2
В плазме крови					
HIF1 α , нг/мл	0,17 \pm 0,01	0,25 \pm 0,01#	0,20 \pm 0,01#*	0,18 \pm 0,01*	0,19 \pm 0,01#*
ФЕПКК, нг/мл	4,84 \pm 0,30	9,629 \pm 0,942#	4,60 \pm 0,29*	4,93 \pm 0,32*	4,31 \pm 0,35*
PPAR γ , нг/мл	2,64 \pm 0,34	1,39 \pm 0,29#	2,29 \pm 0,28*	2,16 \pm 0,22*	2,38 \pm 0,26*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни); # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима на постоянное освещение активность креатинкиназы в головном мозге крыс достоверно увеличилась на 13,9 % по сравнению с интактной группой (Таблица 98). Применение фармакологической коррекции KSE-02 достоверно снизило активность фермента на 9,9 %, мелатонина – на 8,5 % по сравнению с контрольной группой. Активность ЛДГ в контрольной группе достоверно увеличилась на 61,5 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 достоверно снизило активность фермента на 28,7 %, мелатонина - на 25,4 %, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 23,3 % по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с интактной группой применение пептидов гипофиза достоверно повысило активность ЛДГ на 23,8 %.

Таблица 98 – Фармакологическая коррекция активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс и ФЕПМК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови животных при постоянном освещении через 1 месяц после «усиления окислительного давления»

Исследуемые показатели (M \pm m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
В головном мозге					
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	336,4 \pm 16,9	383,2 \pm 15,1#	344,9 \pm 11,8*	350,5 \pm 9,7*	346,3 \pm 16,3
Лактатдегидрогеназа, Ед.акт./г белка	15,26 \pm 1,15	24,7 \pm 2,3#	17,6 \pm 1,9*	18,4 \pm 1,3*	18,9 \pm 0,8*#
Na ⁺ ,K ⁺ -АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	4,7 \pm 0,3	5,2 \pm 0,2#	4,01 \pm 0,21*	4,3 \pm 0,3*	5,3 \pm 0,3
В плазме крови					
HIF1 α , нг/мл	0,22 \pm 0,01	0,35 \pm 0,03#	0,24 \pm 0,01*	0,21 \pm 0,02*	0,23 \pm 0,02*
ФЕПМК, нг/мл	5,89 \pm 0,43	13,91 \pm 1,16#	3,75 \pm 0,24*#	3,85 \pm 0,32*#	3,59 \pm 0,28*#
PPAR γ , нг/мл	3,8 \pm 0,5	2,04 \pm 0,58#	3,09 \pm 0,42*	3,23 \pm 0,25*	3,06 \pm 0,62
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при p \leq 0,05; критерий Манна-Уитни)					
# – достоверно в сравнении с интактной группой (при p \leq 0,05; критерий Манна-Уитни)					

Одновременно в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное повышение концентрации HIF1 α на 59,1 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование субстратов фармакологической коррекции достоверно снижает концентрацию данного фактора, так применение KSE-02 снижает на 31,4 %, мелатонина – на 41,4 %, пептидного экстракта гипофиза – на 34,2 % по сравнению с контрольной группой. Активность фермента ФЕПМК в контрольной группе достоверно повысилась в 2,4 раза по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно снизило активность данного фермента. Применение KSE-02 снизило на 73,0 %, мелатонина – на 72,3 %, пептидного экстракта гипофиза - на 74,2 % по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с интактной группой применение фармакологических субстанций достоверно снизило активность фермента, но в меньшей степени, так применение KSE-02 снизило на 36,3 %, мелатонина – на 34,6 %, пептидного экстракта гипофиза - на 39,0 %. Концентрация транскрипционного фактора PPAR γ в плазме крови контрольных животных достоверно снизилась на 46,3 % по сравнению с интактной группой. Использование средств

фармакологической коррекции достоверно повышает концентрацию этого фактора. Применение KSE-02 повышает на 51,5 %, мелатонина – на 58,3 % .

Через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима на постоянную темноту (Таблица 99) активность креатинкиназы в головном мозге крыс достоверно увеличилась на 12,7 % по сравнению с интактной группой.

Таблица 99 – Фармакологическая коррекция активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс и $\text{HIF1}\alpha$, $\text{PPAR}\gamma$ в плазме крови животных при постоянной темноте через 1 месяц после «усиления окислительного давления»

Исследуемые показатели ($M\pm m$)	Экспериментальные группы				
	Интактны е	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
В головном мозге					
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	306,37±10,01	345,8±11,6#	302,5±14,5*	328,4±11,8	316,7±9,7*
Лактатдегидрогеназа, Ед. акт./г белка	19,61±1,24	23,2±0,9#	19,96±1,14*	20,8±1,4	19,7±1,3*
Na^+, K^+ -АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	7,02±0,37	8,5±0,3#	3,9±0,3*#	6,7±0,4*	7,9±0,7
В плазме крови					
$\text{HIF1}\alpha$, нг/мл	0,19±0,01	0,25±0,01#	0,22±0,01*	0,21±0,01*	0,199±0,014*
ФЕПМК, нг/мл	3,5±0,2	7,3±0,7#	3,46±0,18*	4,2±0,2*#	3,7±0,2*
$\text{PPAR}\gamma$, нг/мл	1,87±0,20	1,38±0,12#	1,95±0,22*	1,8±0,2	2,13±0,19*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Применение фармакологической коррекции KSE-02 достоверно снизило активность фермента на 12,5 %, пептидного экстракта гипофиза – на 8,4 % по сравнению с контрольной группой. Активность ЛДГ в контрольной группе достоверно увеличилась на 18,4 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 достоверно снизило активность фермента на 14,2 %, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 15,1 % по сравнению с контрольной группой. Одновременно в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное повышение концентрации $\text{HIF1}\alpha$ на 31,5 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование субстратов фармакологической коррекции достоверно понижает концентрацию данного фактора, так применение KSE-02 понижает на 12,0 %,

мелатонина – на 16,0 %, пептидного экстракта гипофиза – на 20,4 % по сравнению с контрольной группой.

Активность фермента ФЕПКК в контрольной группе достоверно повысилась в 2,1 раза по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно понизило активность данного фермента. Применение KSE-02 понизило на 52,5 %, мелатонина – на 42,4 %, пептидного экстракта гипофиза - на 49,3 % по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с интактной группой применение достоверно мелатонина снизило активность фермента на 20,0 %. Концентрация транскрипционного фактора PPAR γ в плазме крови контрольных животных достоверно понизилась на 26,2 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 достоверно повышает концентрацию этого фактора на 41,3 %, клеточного экстракта гипофиза Северного оленя – на 54,3 %.

5.3.2 Результаты фармакологической коррекции активности ферментов энергетического обмена в тканях головного мозга крыс, концентрации ФЕПК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения и светового десинхрониза

Через 3 месяца после острого однократного отравления тиопенталом натрия в условиях обычного освещения (Таблица 100) активность креатинкиназы в головном мозге крыс контрольной группы достоверно повысилась на 9,5 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 способствовало достоверному понижению активности креатинкиназы на 7,9 %. Активность лактатдегидрогеназы достоверно повышается на 22,7 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование KSE-02 достоверно снизило активность ЛДГ на 15,7 %, пептидного экстракта гипофиза - на 12,4 % по сравнению с контрольной группой. Активность Na⁺,K⁺-АТФазы достоверно повышается при использовании KSE-02 на 73,3 %, при использовании мелатонина – на 45,0 %, пептидов гипофиза – на 85,0 % по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с интактной группой активность Na⁺,K⁺-АТФазы также достоверно увеличилась при использовании фармакологических субстанций. Так использование KSE-02 повысило активность фермента на 57,5 %, мелатонина – на 31,8 %, пептидного экстракта гипофиза – на 68,2 %. Одновременно в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное повышение концентрации HIF1 α на 21,8 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование субстратов фармакологической коррекции достоверно понижает концентрацию данного фактора, так применение KSE-02

понижает на 16,6 %, мелатонина – на 12,5 % по сравнению с контрольной группой. Активность фермента ФЕПКК в контрольной группе достоверно повысилась на 70,5 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно понизило активность данного фермента. Применение KSE-02 понизило на 55,2 %, мелатонина – на 53,8 %, клеточного экстракта гипофиза - на 57,7 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с интактной группой применение пептидного экстракта гипофиза достоверно снизило активность ФЕПКК на 27,9 %. Концентрация транскрипционного фактора PPAR γ в плазме крови экспериментальных животных достоверно не изменилась.

Таблица 100 – Фармакологическая коррекция активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс и HIF1 α , PPAR γ в плазме крови крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M \pm m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
В головном мозге					
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	367,7 \pm 9,6	402,1 \pm 6,3#	370,9 \pm 10,4*	387,5 \pm 8,9	384,6 \pm 7,9
Лактатдегидрогеназа, Ед. акт./г белка	24,4 \pm 1,3	29,9 \pm 1,5#	25,3 \pm 1,5*	27,9 \pm 1,7	26,2 \pm 1,2*
Na ⁺ ,K ⁺ -АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	6,6 \pm 0,3	6,0 \pm 0,2	10,4 \pm 0,8*#	8,7 \pm 0,6*#	11,1 \pm 0,5*#
В плазме крови					
HIF1 α , нг/мл	0,19 \pm 0,01	0,24 \pm 0,01#	0,20 \pm 0,01*	0,21 \pm 0,01*	0,22 \pm 0,02
ФЕПКК, нг/мл	5,15 \pm 0,49	8,78 \pm 1,07#	3,93 \pm 0,42*	4,06 \pm 0,38*	3,71 \pm 0,27*#
PPAR γ , нг/мл	2,56 \pm 0,36	2,44 \pm 0,64	1,88 \pm 0,47	2,15 \pm 0,33	2,01 \pm 0,30
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при p \leq 0,05; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при p \leq 0,05; критерий Манна-Уитни)					

Результаты фармакологической коррекции активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс, концентрации ФЕПКК, HIF1 α , PPAR γ в плазме крови животных в условиях постоянного освещения через 3 месяца эксперимента представлены в Таблице 101.

Таблица 101 – Фармакологическая коррекция активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс и HIF1 α , PPAR γ в плазме крови животных через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M \pm m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
В головном мозге					
Креатинкиназа, Ед.акт./г белка	279,2 \pm 10,6	312,02 \pm 7,97#	330,9 \pm 11,06#	344,2 \pm 15,1#*	323,6 \pm 12,9#
Лактатдегидрогеназа, Ед.акт./г белка	10,1 \pm 1,4	15,3 \pm 1,5#	20,75 \pm 1,09#	21,3 \pm 1,2#*	17,9 \pm 1,5#
Na ⁺ ,K ⁺ -АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	10,2 \pm 0,4	11,0 \pm 0,5	8,4 \pm 0,3#*	6,4 \pm 0,2#*	7,4 \pm 0,7#*
В плазме крови					
HIF1 α , нг/мл	0,24 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01#	0,22 \pm 0,01*	0,23 \pm 0,01*	0,24 \pm 0,01*
ФЕПКК, нг/мл	6,7 \pm 0,3	17,3 \pm 3,4#	4,1 \pm 0,3#*	4,5 \pm 0,3#*	3,8 \pm 0,3#*
PPAR γ , нг/мл	4,2 \pm 0,7	3,7 \pm 0,4	1,84 \pm 0,33#*	1,92 \pm 0,34#*	2,42 \pm 0,49#*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при p \leq 0,05; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при p \leq 0,05; критерий Манна-Уитни)					

Через 3 месяца после острого однократного отравления тиопенталом натрия в условиях постоянного освещения активность креатинкиназы в головном мозге крыс контрольной группы достоверно повысилась на 11,8 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно повышает активность креатинкиназы в головном мозге. KSE-02 способствовало достоверному повышению активности фермента на 18,3 %, мелатонина – на 23,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 15,7 % по сравнению с интактной группой. Применение мелатонина повысило активность фермента на 10,3 % по сравнению с контрольной группой. Активность лактатдегидрогеназы достоверно повышается на 51,5 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. При фармакологической коррекции KSE-02 повышает активность фермента в 2,1 раза (p \leq 0,05), мелатонина – в 2,1 раза (p \leq 0,05), пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 77,2 % по сравнению с интактной группой. Использование KSE-02 достоверно повысило активность ЛДГ на 35,6 %, мелатонина – на 39,2 % (p \leq 0,05) по сравнению с контрольной группой. Активность Na⁺,K⁺-АТФазы достоверно понижается при использовании KSE-02 на 23,6 %, при использовании мелатонина –

на 41,8 %, пептидов гипофиза – на 32,7 % по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с интактной группой, активность Na^+, K^+ -АТФазы также достоверно снизилась при использовании фармакологических субстанций, при применении KSE-02 – на 17,6 %, мелатонина – на 37,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 27,5 %.

Одновременно в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное повышение концентрации $\text{HIF1}\alpha$ на 16,6 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование субстратов фармакологической коррекции достоверно понижает концентрацию данного фактора, так применение KSE-02 понижает на 21,4 %, мелатонина – на 17,9 % , пептидов гипофиза Северного оленя – на 14,3 % по сравнению с контрольной группой. Активность фермента ФЕПМК в контрольной группе достоверно повысилась в 2,6 раза по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно понизило активность данного фермента. Применение KSE-02 понизило на 76,3 %, мелатонина – на 73,9 %, пептидного экстракта гипофиза - на 78,0 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с интактной группой применение KSE-02 достоверно снизило активность ФЕПМК на 38,8 %, мелатонина – на 32,8 %, пептидного экстракта гипофиза на – 43,3 %. Концентрация транскрипционного фактора $\text{PPAR}\gamma$ в плазме крови экспериментальных животных достоверно понизилась при использовании средств фармакологической коррекции. Так введение KSE-02 достоверно снизило концентрацию фактора в плазме крови на 56,2 %, мелатонина – на 54,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 42,3 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой введение фармакологических субстанций также достоверно понизило концентрацию $\text{PPAR}\gamma$, KSE-02 - на 50,2 %, мелатонина – на 48,1 %, пептидного экстракта гипофиза – на 34,6 %.

Результаты фармакологической коррекции активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс, концентрации ФЕПМК, $\text{HIF1}\alpha$, $\text{PPAR}\gamma$ в плазме крови животных, находящихся в условиях постоянной темноты через 3 месяца эксперимента представлены в Таблице 102.

Через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях постоянной темноты активность креатинкиназы в головном мозге крыс контрольной группы достоверно повысилась на 16,4 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно повышает активность креатинкиназы в головном мозге. Применение пептидный экстракт гипофиза Северного оленя способствовало достоверному повышению активности фермента на 11,9 %, по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 повысило активность фермента на 13,1 %, пептидного экстракта гипофиза – на 8,8 % по сравнению с контрольной группой. Активность лактатдегидрогеназы достоверно повышается

на 16,2 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. При фармакологической коррекции KSE-02 повышает активность фермента на 19,1 % ($p \leq 0,05$), пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 42,8 % по сравнению с интактной группой. Использование KSE-02 достоверно повысило активность ЛДГ на 19,9 %, ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Активность Na^+, K^+ -АТФазы достоверно понижается при использовании KSE-02 на 54,9 %, при использовании мелатонина – на 54,4 %, пептидов гипофиза – на 58,2 % по сравнению с контрольной группой. В случае сравнения с интактной группой активность Na^+, K^+ -АТФазы также достоверно снизилась при использовании фармакологических субстанций, так использование KSE-02 – на 52,8 %, мелатонина – на 52,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 56,3 %.

Таблица 102 – Фармакологическая коррекция активности ферментов энергетического обмена в головном мозге крыс и $\text{HIF1}\alpha$, $\text{PPAR}\gamma$ в плазме крови животных через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
В головном мозге					
Креатинкиназа, Ед. акт./г белка	311,3±12,6	320,6±15,9	362,3±22,7#*	337,5±13,1	348,6±13,8#*
Лактатдегидрогеназа, Ед. акт./г белка	17,3±1,4	20,1±1,1#	24,1±0,9#*	20,6±1,8	24,7±1,3#
Na^+, K^+ -АТФаза, мкмольРi /мг белка в час	17,4±0,8	18,2±0,5	8,2±0,3#*	8,3±0,5#*	7,6±0,3#*
В плазме крови					
$\text{HIF1}\alpha$, нг/мл	0,22±0,01	0,24±0,01#	0,21±0,01*	0,23±0,01	0,21±0,01*
ФЕПКК, нг/мл	3,85±0,24	5,65±0,58#	3,46±0,72*	4,06±0,81*	4,17±0,77*
$\text{PPAR}\gamma$, нг/мл	1,26±0,15	1,42±0,21#	2,40±0,49#*	1,69±0,33	2,39±0,47#*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Одновременно в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное повышение концентрации $\text{HIF1}\alpha$ на 8,7 % в контрольной группе по сравнению с интактной группой. Использование субстратов фармакологической коррекции достоверно понижает концентрацию

данного фактора, так применение KSE-02 понижает на 13,0 %, пептидов гипофиза Северного оленя – на 13,8 % по сравнению с контрольной группой.

Активность фермента ФЕПМК в контрольной группе достоверно повысилась на 46,7 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологических субстанций достоверно понизило активность данного фермента. Применение KSE-02 понизило на 38,8 %, мелатонина – на 28,1 %, пептидного экстракта гипофиза - на 26,2 % по сравнению с контрольной группой.

Концентрация транскрипционного фактора PPAR γ в плазме крови контрольных животных достоверно повысилась на 12,6 % по сравнению с интактной группой. В плазме крови экспериментальных животных концентрация PPAR γ достоверно повысилась при использовании средств фармакологической коррекции. Так введение KSE-02 достоверно снизило концентрацию фактора в плазме крови на 90,4 %, пептидного экстракта гипофиза – на 89,6 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой введение фармакологических субстанций также достоверно повысило концентрацию PPAR γ , KSE-02 - на 69,0 %, пептидного экстракта гипофиза – на 68,3 %.

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа был оценен вклад исследуемых субстанций без десинхронизации (фактор А) и их взаимодействие с измененным световым режимом на показатели энергетического обмена.

Через 1 месяц светового десинхронизации после «усиления окислительного давления» значимый эффект фармкоррекции KSE-02 проявился на показателях ФЕПМК (ФД=0,729), NIF1 α (ФД=0,553). Взаимодействие субстанции KSE-02 и постоянного освещения проявилось на показателе Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,378).

Аналогичные воздействия оказаны KSE-02 при постоянной темноте – ФЕПМК (ФД=0,647), NIF1 α (ФД=0,328). Взаимодействие выявлено на показателях NIF1 α (ФД=0,102), Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,436) (Таблицы 103 – 104).

Таблица 103 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,111	0,015*	0,558	8,71 $\times 10^{-6}$ *	0,011	0,405	0,318

Продолжение Таблицы 103

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛДГ	0,140	0,023*	0,335	0,001*	0,054	0,141	0,468
НIF1 α	0,553	7,234 $\times 10^{-5}$ *	9 $\times 10^{-4}$	0,990	2 $\times 10^{-6}$	0,999	0,446
ФЕПКК	0,729	4,04 $\times 10^{-9}$ *	0,037	0,037*	0,083	0,003*	0,15
PPAR γ	0,192	0,029*	0,107	0,095	0,001	0,855	0,699
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,010	0,538	0,068	0,126	0,378	0,001*	0,542
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 104 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,245	0,008*	0,152	0,031*	0,034	0,282	0,567
ЛДГ	0,079	0,050*	0,519	4,943 $\times 10^{-5}$ *	0,008	0,512	0,392
НIF1 α	0,328	0,0003*	0,206	0,003*	0,102	0,027*	0,362
ФЕПКК	0,647	4,711 $\times 10^{-7}$ *	0,098	0,010*	0,011	0,346	0,243
PPAR γ	0,310	0,005*	0,019	0,453	0,014	0,508	0,655
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,209	4,57 $\times 10^{-6}$ *	0,244	1,66 $\times 10^{-6}$ *	0,436	2,06 $\times 10^{-8}$ *	0,109
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина, существенный эффект фармакологической коррекции через 1 месяц исследования проявился при постоянном освещении – ФЕПКК (ФД=0,713), НIF1 α (ФД=0,702). Взаимодействие мелатонина и постоянного освещения проявилось на показателе Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,237). В случае светового режима – постоянная темнота эффект исследуемой субстанции проявился на тех же показателях, ФЕПКК (ФД=0,591), НIF1 α (ФД=0,500). Эффект взаимодействия мелатонина и постоянной темноты проявился на двух показателях: Na⁺,K⁺-АТФазе (ФД=0,130)

и HIF1 α (ФД=0,199) (Таблицы 105 – 106).

Таблица 105 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,161	0,0006*	0,629	$1,358 \times 10^{-7}$	0,008	0,373	0,2
ЛДГ	0,291	0,002*	0,237	0,004*	0,007	0,574	0,462
HIF1 α	0,702	$9,307 \times 10^{-7}$ *	0,004	0,602	0,004	0,602	0,289
ФЕПКК	0,713	$7,944 \times 10^{-9}$ *	0,033	0,050*	0,094	0,002*	0,159
PPAR γ	0,214	0,015*	0,166	0,029*	0,010	0,571	0,608
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,004	0,740	0,038	0,311	0,237	0,018*	0,719
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 106 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,188	0,002*	0,455	$2,582 \times 10^{-5}$ *	0,046	0,097	0,309
ЛДГ	0,208	0,005*	0,332	0,001*	0,020	0,349	0,438
HIF1 α	0,500	$3,524 \times 10^{-6}$ *	0,05	0,050*	0,199	0,001*	0,249
ФЕПКК	0,591	$3,456 \times 10^{-6}$ *	0,088	0,023*	0,025	0,199	0,294
PPAR γ	0,229	0,019*	0,033	0,344	0,026	0,394	0,711
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,006	0,457	0,652	$1,490 \times 10^{-7}$ *	0,130	0,002*	0,210
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Через 1 месяц использования в качестве фармакологической коррекции пептидного

экстракта гипофиза Северного оленя фармакологический эффект субстанции проявился на двух показателях при постоянном освещении, а именно, показатели ФЕППК (ФД=0,738), HIF1 α (ФД=0,647). Значительного взаимодействия не выявлено. При постоянной темноте фармакологический эффект субстанции проявился на трех показателях при постоянном освещении, а именно, показатели ФЕППК (ФД=0,653), HIF1 α (ФД=0,500) и PPAR γ (ФД=0,416), а взаимодействие двух факторов проявилось на показателе HIF1 α (ФД=0,119) (Таблицы 107-108).

Таблица 107 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
КК	0,126	0,013*	0,537	1,543 $\times 10^{-5}$ *	0,0003	0,879	0,335
ЛДГ	0,185	0,008*	0,345	0,001*	0,028	0,267	0,440
HIF1 α	0,647	4,639 $\times 10^{-6}$ *	0,008	0,489	0,008	0,489	0,336
ФЕППК	0,738	3,082 $\times 10^{-9}$ *	0,038	0,033*	0,075	0,004*	0,147
PPAR γ	0,171	0,045*	0,074	0,173	3,57 $\times 10^{-5}$	0,975	0,753
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,001	0,851	0,524	0,0001*	0,001	0,776	0,472
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 108 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
КК	0,219	0,004*	0,339	0,001*	0,0008	0,842	0,439
ЛДГ	0,131	0,012*	0,517	2,38 $\times 10^{-5}$ *	0,003	0,656	0,346
HIF1 α	0,500	5,91 $\times 10^{-6}$ *	0,11	0,009*	0,119	0,007*	0,269
ФЕППК	0,653	5,66 $\times 10^{-7}$ *	0,069	0,028*	0,024	0,180	0,251

Продолжение Таблицы 108

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
PPAR γ	0,416	0,001*	0,01	0,555	0,007	0,619	0,565
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,003	0,514	0,823	4,22 $\times 10^{-9}$ *	0,002	0,564	0,17
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, оценка вклада изучаемых показателей энергетического обмена при фармакологической коррекции функционального состояния организма после 1 месяца светового десинхроноза, выявило воздействие исследуемых субстанций в дозе 100 100 мкг/кг интраназальным способом введения, в значительной степени на показатели HIF1 α , ФЕПМК и PPAR γ . Это подтверждает еще раз, что при световом десинхронозе развивается состояние гипоксии. Недостаток кислорода в клетке изменяет активность фермента ФЕПМК, что может быть связано с использованием оксалоацетата для синтеза цитрата с дальнейшим «сгоранием» в реакциях ЦТК. Энергетические преобразования в клетке связаны активностью фермента Na⁺,K⁺-АТФазы, одного из ключевых потребителей АТФ и создателя трансмембранного потенциала действия. Изменение светового режима способствует нарушению циркадианной активности данного фермента. Наибольший эффект взаимодействия исследуемых субстанций и светового режима выявлен при постоянной темноте.

Факт того, что фармакологическая коррекция оказала эффект на транскрипционный фактор PPAR γ свидетельствует, что изменяется экспрессия часовых генов, связанных с клеточным метаболизмом, обменом энергии, в частности.

Семейство PPAR рецепторов (активируемый пролифератором пероксисом) являются факторами транскрипции, принадлежащими к суперсемейству ядерных рецепторов – это группа белков, которые обычно активируются соответствующими лигандами и функционируют внутри ядра клеток для контроля метаболизма, развития, и гомеостаза организма. PPAR гетеродимеризуются с ретиноидным рецептором X (RXR) и связываются с PPAR чувствительным элементом (PPRE) в регуляторной области гена - мишени, которые участвуют в различных биологических процессах, таких как липидный обмен, адипогенез, чувствительность к инсулину, иммунный ответ, а также рост и дифференцировка клеток. PPAR также участвуют в патогенезе кластера человеческих заболеваний, например, метаболический синдром, включающий инсулинорезистентность, непереносимость глюкозы, ожирение, дислипидемия, гипертония, атеросклероз и микроальбуминурия. PPAR α в большом количестве

содержится в печени, бурой жировой ткани, сердце и в почках; PPAR γ содержится, в основном, в жировой ткани, PPAR β/δ повсеместно экспрессируется по всему организму [210,275]. PPAR α и PPAR γ напрямую взаимодействует с часовыми генами, что позволяет предположить, что они могут действовать как молекулярные связные между циркадианным ритмом и энергетическим обменом [503]. PPAR γ является ключевым регулятором адипогенеза, демонстрирует циркадианную экспрессию в печени, в жировой ткани мышей и в кровеносных сосудах [312]. Более того, несколько других ключевых факторов, связанных с PPAR γ играют важную роль в циркадианном ритме. Примечательно, что REVERB α , ген-мишень PPAR γ [248], является одним из основных компонентов биологических часов. PPAR рецепторы широко продемонстрированы как эффективные молекулярные мишени для лечения метаболических заболеваний. Циркадные колебания PPAR и их гены-мишени демонстрируют тесную связь с энергетическим обменом и метаболическим гомеостазом. Аберрация PPAR-циркадианных процессов в клеточной часовой системе может привести к изменению экспрессии метаболических генов, что приводит к нарушению энергетического статуса [210].

Через 3 месяца светового десинхроноза оценка вклада параметров энергетического обмена в функциональное состояние организма двухфакторным дисперсионным анализом показала, что фармакоррекция KSE-02 при постоянном освещении оказала максимальный эффект на показатели NIF1 α (ФД=0,508), ФЕППК (ФД=0,444) и PPAR γ (ФД=0,221). Эффект взаимодействия выявлен в активности ферментов ЛДГ (ФД=0,164) и Na⁺,K⁺-АТФазы (ФД=0,582). При постоянной темноте на активность фермента ФЕППК (ФД=0,473) и концентрацию NIF1 α (ФД=0,437) существенно воздействовала исследуемая фармакологическая субстанция. Эффект взаимодействия выявлен в активности ферментов КК (ФД=0,166), ЛДГ (ФД=0,232), Na⁺,K⁺-АТФазы (ФД=0,575) (Таблицы 109-110).

Таблица 109 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
КК	0,005	0,508	0,644	6,66×10 ⁻⁷ *	0,095	0,012*	0,254
ЛДГ	0,001	0,780	0,585	1,13×10 ⁻⁶ *	0,164	0,001*	0,248
NIF1 α	0,508	2,236×10 ⁻⁵ *	0,139	0,009*	0,014	0,357	0,337

Продолжение Таблицы 109

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ФЕПМК	0,444	$6,991 \times 10^{-5}$ *	0,104	0,025*	0,094	0,032*	0,356
PPAR γ	0,221	0,017*	0,057	0,199	0,065	0,171	0,654
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,038	0,103	0,114	0,008*	0,582	$1,88 \times 10^{-6}$ *	0,265
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 110 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,003	0,732	0,255	0,007*	0,166	0,025*	0,574
ЛДГ	0,002	0,779	0,373	0,0003*	0,232	0,002*	0,392
НIF1 α	0,437	0,0007*	$2,75 \times 10^{-6}$	0,992	0,009	0,574	0,553
ФЕПМК	0,473	$3,21 \times 10^{-5}$ *	0,124	0,012*	0,068	0,050*	0,333
PPAR γ	0,010	0,621	0,014	0,559	0,137	0,085	0,837
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,085	$2,782 \times 10^{-5}$ *	0,280	$4,69 \times 10^{-9}$ *	0,575	$8,514 \times 10^{-12}$ *	0,058
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина значимый эффект при постоянном освещении был выявлен при оценке показателей активности ФЕПМК (ФД=0,432), PPAR γ (ФД=0,187) и концентрации НIF1 α (ФД=0,335). Взаимодействия фактора освещенности и фармакологической коррекции проявилось при постоянном освещении на показателе Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,669). В случае постоянной темноты показатели НIF1 α (ФД=0,215), ФЕПМК (ФД=0,426) внесли свесомый вклад в энергетический обмен клетки. Эффект взаимодействия влияния фармкоррекции и постоянной темноты проявился на показателях ФЕПМК (ФД=0,104) и Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,435) (Таблицы 111 – 112).

Таблица 111 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,010	0,398	0,623	$2,105 \times 10^{-6}$ *	0,076	0,031*	0,288
ЛДГ	0,023	0,180	0,641	$4,973 \times 10^{-7}$ *	0,092	0,012*	0,242
НIF1 α	0,335	0,001*	0,190	0,009*	0,005	0,633	0,468
ФЕПКК	0,432	$9,118 \times 10^{-5}$ *	0,111	0,022*	0,092	0,035*	0,363
PPAR γ	0,187	0,027*	0,048	0,241	0,097	0,102	0,665
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,043	0,046*	0,095	0,005*	0,669	$6,06 \times 10^{-8}$ *	0,192
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 112 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,001	0,924	0,592	$1,613 \times 10^{-5}$ *	0,034	0,190	0,372
ЛДГ	0,004	0,635	0,596	$1,923 \times 10^{-5}$ *	0,012	0,423	0,386
НIF1 α	0,215	0,024*	0,011	0,574	0,043	0,286	0,729
ФЕПКК	0,426	$9,85 \times 10^{-5}$ *	0,105	0,025*	0,104	0,026*	0,363
PPAR γ	$2,02 \times 10^{-5}$	0,982	0,157	0,064	0,023	0,457	0,819
Na ⁺ ,K ⁺ - АТФаза	0,140	$3,50 \times 10^{-7}$ *	0,373	$1,093 \times 10^{-10}$ *	0,435	$2,77 \times 10^{-11}$ *	0,050
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя фармакологический эффект при постоянном освещении проявился в показателях НIF1 α (ФД=0,214), ФЕПКК (ФД=0,461) и PPAR γ (ФД=0,123). Взаимодействие

проявилось при постоянном освещении на показателе активности Na^+, K^+ -АТФазы (ФД=0,760). При постоянной темноте пептидный экстракт оказал воздействие на $\text{HIF1}\alpha$ (ФД=0,236), ФЕППК (ФД=0,137). При этом взаимодействие выявлено на показателях ЛДГ (ФД=0,207), ФЕППК (ФД=0,137), Na^+, K^+ -АТФаза (ФД=0,678) (Таблицы 113 – 114).

Таблица 113 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,001	0,746	0,751	$6,78 \times 10^{-8}$ *	0,027	0,126	0,219
ЛДГ	0,001	0,721	0,716	$1,24 \times 10^{-7}$ *	0,055	0,038*	0,226
$\text{HIF1}\alpha$	0,214	0,017*	0,133	0,050*	0,011	0,562	0,640
ФЕППК	0,461	$4,622 \times 10^{-5}$ *	0,097	0,027*	0,094	0,029*	0,345
$\text{PPAR}\gamma$	0,123	0,079	0,117	0,087	0,031	0,362	0,727
Na^+, K^+ - АТФаза	0,022	0,148	0,02	0,166	0,760	$2,61 \times 10^{-8}$ *	0,196
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 114 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на показатели энергетического обмена крыс после «усиления окислительного давления» через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А		Фактор В		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
КК	0,004	0,658	0,513	$6,29 \times 10^{-5}$ *	0,077	0,065	0,404
ЛДГ	0,002	0,732	0,384	0,0003*	0,207	0,004*	0,405
$\text{HIF1}\alpha$	0,236	0,020*	0,018	0,487	0,002	0,787	0,742
ФЕППК	0,455	$3,92 \times 10^{-5}$ *	0,076	0,044*	0,137	0,009*	0,331
$\text{PPAR}\gamma$	0,021	0,483	0,029	0,403	0,140	0,076	0,809
Na^+, K^+ -	0,083	$4,82 \times 10^{-7}$ *	0,206	$3,25 \times 10^{-10}$ *	0,678	$5,57 \times 10^{-15}$ *	0,031
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, через 3 месяца светового десинхроноза оценка вклада изучаемых

показателей энергетического обмена при фармакологической коррекции функционального состояния организма, выявило воздействие исследуемых субстанций в значительной степени на показатели HIF1 α , ФЕПКК и PPAR γ при постоянном освещении. Исследуемые субстанции при постоянном освещении оказывают метаболическое действие, действуя через транскрипционные факторы, изменяют активность экспрессии часовых генов. Эффект взаимодействия выявлен на показателях активности ЛДГ и Na⁺,K⁺-АТФазы при использовании KSE-02. При использовании мелатонина и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя взаимодействие двух факторов выявлено только на показателе Na⁺,K⁺-АТФазы.

При постоянной темноте исследуемые вещества оказали значительное воздействие также на показатели HIF1 α , ФЕПКК, но эффект взаимодействия при использовании KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя разнообразнее. Выявлено участие в реализации фармакологического эффекта на показателях КК, ФЕПКК и ЛДГ. Это свидетельствует, что данные вещества обладают множественным эффектом на клеточный метаболизм при режиме постоянная темнота.

5.4. Содержание катехоламинов в плазме крови крыс в условиях хронического светового десинхроноза и фармакологической коррекции

5.4.1 Фармакологическая коррекция содержания катехоламинов в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза

Результаты исследований фармакологической коррекции показателей катехоламинов у крыс в условиях обычного освещения и измененного светового режима через 1 месяц эксперимента представлены в Таблице 115. В группе с обычным освещением через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе использование фармакологической коррекции приводит к достоверному уменьшению концентрации дофамина в плазме крови при использовании KSE-02 на 50,0 %. Применение мелатонина достоверно уменьшило концентрацию дофамина на 66,7 % по сравнению с контрольной группой. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя увеличил концентрацию дофамина в плазме крови крыс на 52,7 % сравнению с контрольной группой, но данные изменения недостоверны. Концентрация дофамина в плазме крови контрольных крыс на 53,2 % достоверно ниже, чем в группе интактных животных.

Таблица 115 – Фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Дофамин, нг/л	7,7±3,6	3,6±1,2#	1,8±0,7*	1,2±0,6*	5,5±2,9
Норадреналин, нг/л	1281,3±165,2	1081,4±151,7	1193,8±114,8	1702,0±331,5*	1310,9±168,3*
Адреналин, нг/л	2525,8±222,2	2194,4±159,4	3045,1±300,8*	3182,3±312,3*	3206,3±267,7*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Использование исследуемых субстанций повысило концентрацию норадреналина в плазме крови животных через 1 месяц эксперимента. Применение KSE-02 увеличило концентрацию НА на 10,4 %, но недостоверно. Использование мелатонина достоверно увеличивает концентрацию НА на 57,4 %, пептидного экстракта гипофиза – на 46,1 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Концентрация адреналина в плазме крови у крыс также увеличивается. При использовании KSE-02 достоверно повышается на 38,8 %, мелатонина - на 45,0 %, пептидного экстракта гипофиза – на 46,1 % по сравнению с показателями контрольной группы. Сравнение значений этого показателя со значениями интактной группой не дает достоверных результатов.

В группе с постоянным освещением (Таблица 116) через 1 месяц после «усиления окислительного давления» использование фармакологической коррекции приводит к достоверному снижению концентрации дофамина в плазме крови при использовании KSE-02 на 35,7 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с показателем интактной группы, концентрация дофамина достоверно снизилась на 60,1 %. Применение мелатонина достоверно увеличило концентрацию дофамина в плазме крови на 32,1 % по сравнению с контрольной группой, при сравнении с интактной группой – на 19,5 %, пептидный экстракт гипофиза снизил концентрацию дофамина в плазме крови крыс на 39,2 % сравнению с контрольной группой. При сравнении с интактной группой снижение достоверно на 63,0 %. Концентрация дофамина в плазме крови контрольных крыс на 39,1 % достоверно ниже, чем в группе интактных животных. Использование биологически активных субстанций повысило концентрацию норадреналина в плазме крови животных через 1 месяц эксперимента. Применение KSE-02 достоверно увеличило концентрацию НА на 54,5 %.

Таблица 116 – Фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Дофамин, нг/л	4,6±0,7	2,8±1,4#	1,8±0,8*#	3,7±1,4*	1,7±1,1*#
Норадреналин, нг/л	1762,5±284,7	1302,5±181,4	2011,7±427,4*	1643,1±170,9	1128,7±222,6*
Адреналин, нг/л	2816,4±651,4	4250,4±476,8	3501,1±641,0*	3378,9±280,7*	3469,3±444,0

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Использование пептидного экстракта гипофиза снизило уровень норадреналина на 13,4 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Значение показателя норадреналина в плазме крови на 35,9 % ниже, чем у интактных животных. Концентрация адреналина в плазме крови у крыс снижается. При использовании KSE-02 достоверно снижается на 17,6 %, мелатонина - на 20,5 %, пептидного экстракта гипофиза – на 18,3 % по сравнению с показателями контрольной группы. Сравнение значений этого показателя со значениями интактной группой не дает достоверных результатов

В группе с постоянной темнотой через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе (Таблица 117) использование фармакологической коррекции приводит к достоверному повышению концентрации дофамина в плазме крови при использовании KSE-02 на 58,3 % по сравнению с контрольной группой. Применение мелатонина достоверно увеличило концентрацию дофамина в плазме крови в 3,3 раза % по сравнению с контрольной группой.

Использование биологически активных субстанций снизило концентрацию норадреналина в плазме крови животных через 1 месяц эксперимента. Применение KSE-02 достоверно снизило концентрацию НА на 57,7 %. Применение мелатонина достоверно снизило концентрацию НА на 46,7 %, использование пептидного экстракта гипофиза снизило уровень норадреналина на 40,0 % ($p \leq 0,05$) по сравнению с контрольной группой. Концентрация адреналина в плазме крови у крыс при использовании фармакологической коррекции также снижается, примерно на уровне показателей интактной группы. При использовании KSE-02 достоверно снижается на 30,2 %, мелатонина - на 20,4 %, пептидного экстракта гипофиза – на 24,8 % по сравнению с показателями контрольной группы.

Таблица 117 – Фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов в плазме крови через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Дофамин, нг/л	1,5±1,0	1,2±0,4	1,9±1,9	4,0±2,1*	1,0±0,7
Норадреналин, нг/л	2692,9±547,5	4262,3±415,6	1802,6±349,4*	2268,8±530,8*	2554,3±398,2*
Адреналин, нг/л	4734,5±791,1	7041,5±231,3	4914,2±499,9*	5603,6±837,4*	5297,8±627,6*

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

5.4.2 Результаты фармакологической коррекции концентрации катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и светового десинхроноза

Результаты через 3 месяца фармакологической коррекции концентрации катехоламинов в плазме крови крыс при обычном освещении представлены в Таблице 118.

Таблица 118 – Фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Дофамин, нг/л	3,0±1,2	4,3±1,6	2,5±1,3	3,9±1,2	2,9±1,1
Норадреналин, нг/л	2718,8±608,2	2035,1±407,0	2468,4±527,4	1383,6±121,2*#	2063,4±270,2
Адреналин, нг/л	5084,0±866,7	3426,9±468,0#	3390,0±491,0#	3146,8±327,1#	3233,5±354,5#

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

В группе с обычным освещением через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе использование фармакологической коррекции приводит к выравниванию концентрации дофамина в плазме крови на уровень интактной группы. Концентрация НА достоверно снизилась при использовании мелатонина на 32,0 % по сравнению с контрольной

группой. При сравнении с показателями значений интактной группы концентрация норадреналина в плазме крови также достоверно снизилась, на 49,0 %. Использование биологически активных субстанций понизило концентрацию адреналина в плазме крови животных через 3 месяца эксперимента. При сравнении результатов с показателями интактной группы, применение KSE-02 достоверно снизило концентрацию НА на 33,3 %, применение мелатонина достоверно снизило концентрацию НА на 38,1 %, использование пептидного экстракта гипофиза снизило уровень норадреналина на 36,4 % ($p \leq 0,05$).

Результаты через 3 месяца фармакологической коррекции показателей катехоламинов в плазме крови крыс при постоянном освещении представлены в Таблице 119.

Таблица 119 – Фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Дофамин, нг/л	3,0±2,3	3,0±2,3	3,7±0,9	3,0±0,6	3,5±1,7
Норадреналин, нг/л	2116,2±280,8	2445,7±746,2	881,9±88,0*#	2109,2±286,6	2065,0±353,7
Адреналин, нг/л	2864,7±440,4	3357,0±484,7	1739,3±284,4*#	2990,5±437,9	2550,0±596,8
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

В группе с постоянным освещением через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полудетальной дозе использование фармакологической коррекции приводит к выравниванию концентрации дофамина в плазме крови на уровень интактной группы. Концентрация НА достоверно снизилась при использовании KSE-02 на 63,9 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с показателями значений интактной группы концентрация норадреналина в плазме крови также достоверно снизилась, на 58,4 %. Использование биологически активных субстанций понизило концентрацию адреналина в плазме крови животных через 3 месяца эксперимента. При сравнении результатов с показателями контрольной группы, применение KSE-02 достоверно снизило концентрацию адреналина на 48,2 %. При сравнении с показателями значений интактной группы применение KSE-02 снизило уровень адреналина на 39,2 % ($p \leq 0,05$).

Результаты через 3 месяца фармакологической коррекции показателей катехоламинов в плазме крови крыс при постоянной темноте представлены в Таблице 120. В группе с постоянной темнотой через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полудетальной дозе использование фармакологической коррекции приводит к выравниванию концентрации дофамина в плазме крови на уровень интактной группы. Концентрация НА достоверно снизилась при использовании KSE-02 на 67,3 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с показателями значений интактной группы концентрация норадреналина в плазме крови также достоверно снизилась, на 73,6 %. Применение мелатонина также достоверно снизило концентрацию норадреналина в плазме крови на 55,4 % по сравнению с контрольной группой, при сравнении с интактной группой на 44,7 %. Применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя достоверно снизило концентрацию норадреналина на 56,7 % по сравнению с контрольной группой, на 46,4 % по сравнению с интактной группой. Использование пептидного экстракта гипофиза достоверно снизило концентрацию адреналина в плазме крови животных на 34,5 % по сравнению с контрольной группой через 3 месяца эксперимента. При сравнении результатов с показателями контрольной группы, применение KSE-02 достоверно снизило концентрацию адреналина на 55,9 %. При сравнении с показателями значений интактной группы применение KSE-02 снизило уровень адреналина на 47,8 % ($p \leq 0,05$). Применение мелатонина достоверно повысило концентрацию адреналина в плазме крови на 26,6 % по сравнению с показателем интактной группы.

Таблица 120 – Фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Дофамин, нг/л	2,5±2,1	5,8±2,6	0,4±0,2	5,2±1,5	3,5±1,2
Норадреналин, нг/л	1505,5±1012,0	1214,8±410,8	396,4±92,2*#	671,4±90,5* #	651,8±153,2* #
Адреналин, нг/л	1878,4±757,5	2223,8±549,3	979,6±241,0* #	2378,2±449, 1#	1455,9±377,0 *
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Таким образом, фармакологическая коррекция KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 в условиях постоянного освещения способствует снижению дофамина и повышению норадреналина в плазме крови крыс. В

условиях постоянной темноты способствует противоположному эффекту. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения и постоянной темноты способствует снижению концентрации ДА, НА, А. Концентрация А снижается при фармакологической коррекции всех трех соединений. Через 3 месяца светового десинхроноза после «усиления окислительного давления» фармакологическая коррекция KSE-02, мелатонином и пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг снижает концентрацию НА и А в плазме крови крыс.

5.5 Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции

Нейротрофические факторы сопряжены с любым проявлением функциональной активности нервной системы, как в норме, так и при патологии. Нейротрофические факторы стимулируют или тормозят синтез нейромедиаторов, тем самым влияя на сопряженные процессы взаимодействия между клетками. Способны индуцировать дифференцировку и рост нейронов, выживание и стабильность работы нейронов, усиливать репаративные процессы в нервной ткани, участвовать в регуляции апоптоза [46; 50].

Исследование данных белков в плазме крови используется для диагностики, мониторинга и прогнозирования течения патологических процессов. В нашем исследовании концентрация основного белка миелина (МВР) и нейронспецифической енолазы, можно оценивать как сопровождение нейродеструктивных процессов. МВР – протеолипидная белковая фракция, взаимодействует с белками цитоскелета, влияя на их комплектацию и полимеризацию. При повреждении нервной ткани разрушение миелиновой оболочки является универсальным механизмом реакции нервной ткани. Повреждение функции гематоэнцефалического барьера сопровождается повышением концентрации МВР в плазме крови. Нейронспецифическая енолаза (NSE) определяется в нейронах, нейроэндокринных клетках нервной системы, эритроцитах, тромбоцитах, и является общим маркером всех дифференцированных нейронов и относится к внутриклеточным энзимам ЦНС. NSE применяется как клиничко-диагностический критерий для оценки степени повреждения нейронов головного мозга при патологиях центральной нервной системы [50; 151]. GFAP – специфический для мозга астроглиальный белок, экспрессируется многими типами клеток ЦНС. При остром повреждении клеток, некрозе быстро высвобождается, в первую очередь, астроцитами. GFAP регулирует сеть филаментов, присутствующих в клетке, участвует во взаимодействии астроцитов с нейронами, в функционировании гематоэнцефалического

барьера, а также в межклеточной коммуникации. GFAP играет важную роль в восстановлении нервной ткани после травмы ЦНС, формируя глиальные рубцы, принимает участие в развитии аутоиммунных реакций и в нейровоспалении [394; 406]. Нейропротекторный фактор мозга BDNF влияет на регуляцию стабильного взаимодействия нейронов, синаптической пластичности и консолидации долговременной памяти. Острый или хронический стресс снижает уровень BDNF, что может служить пусковым моментом начала заболевания [460]. Данный фактор проявляет как защитные, так и адаптогенные свойства в регуляции деятельности мозга, обладает циркадианной ритмичностью синтеза. PEDF – гликопротеин, фактор дифференцировки из пигментного эпителия. Стимулирует дифференцировку клеток ретинобластомы в нейроны, потенцирует рост и жизнеспособность фоторецепторных клеток и нейронов ЦНС, защищает нейрональные клетки от апоптоза, обладает антиангиогенными свойствами [116]. По некоторым данным литературы, гипероксигенация стимулирует выработку фактора, а гипоксия, наоборот, угнетает. Белок S-100 – полифункциональный белок, связывающий кальций, в больших количествах содержится в астроцитарной глии. Белок связывает ионы кальция, таким образом выполняет регуляторную функцию в процессах пролиферации астроцитов и регенерации нервных клеток. Через изменение потоков кальция может индуцировать апоптоз [467].

5.5.1 Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс через 1 месяц в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции.

5.5.1.1 Результаты фармакологической коррекции показателей нейротрофических факторов в плазме крови крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях обычного освещения (Таблица 121).

В группе с обычным освещением через 1 месяц после «усиления окислительного давления» использование фармакологической коррекции мелатонином приводит к достоверному уменьшению концентрации глиального фибриллярного кислого белка (GFAP) в плазме крови на 41,3 %, а при использовании пептидного экстракта гипофиза на 35,8 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация основного белка миелина (MBP) после отравления тиопенталом натрия в контрольной группе достоверно увеличилась в 2,7 раза по сравнению с интактной группой. Применение фармакологической коррекции мелатонином достоверно уменьшило концентрацию MBP на 23,5 %, применение пептидного экстракта гипофиза – на 40,7 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация белка PEDF – фактора дифференцировки из пигментного эпителия в контрольной группе достоверно

увеличилась на 26,5 %, в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно увеличилась на 76,2 %, мелатонином – на 32,8 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 50,2 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой в группах с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно увеличило концентрацию PEDF на 39,2 %, применение мелатонина достоверно увеличило концентрацию белка на 4,9 %, пептидного экстракта гипофиза – на 18,6 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация мелатонина в плазме крови достоверно понизилась в группе с отравлением тиопенталом натрия на 28,3 % по сравнению с интактной группой. Использование фармакологической коррекции KSE-02 достоверно снизило концентрацию мелатонина в плазме крови на 46,9 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения контрольной группы с группами фармакологической коррекции, то применение экзогенного мелатонина, напротив, достоверно увеличило концентрацию эндогенного мелатонина в плазме крови в 2,3 раза, а применение пептидного экстракта гипофиза – в 2,4 раза.

Таблица 121 – Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови через 1 месяц «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (обычное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
S100, нг/мл	5,01±0,55	7,84±0,65#	6,1±0,7	6,28±0,27	5,67±0,35*
BDNF, пг/мл	345,9±76,4	320,6±24,62	250,9±11,3	287,3±36,9	319,2±52,3
GFAP, пг/мл	38,5±9,6	54,4±6,6	47,0±13,7	31,9±5,1*	34,9±6,8*
MBP, нг/мл	7,92±4,18	21,3±0,5#	19,87±3,58	16,28±1,62*	12,61±3,05*
NSE, нг/мл	17378,4±1203,8	12448,7±1377,2#	17242,6±700,7*	15041±1142,8	17057,7±927
Мелатонин, пг/мл	211,9±87,7	70,3±10,3#	112,5±16,5#*	158,9±25,4*	167,4±28,1*
PEDF, нг/мл	161,2±15,0	204,17±6,95#	284,17±32,51#*	214,17±19,86#	242,17±15,04#*

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)
– достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Концентрация нейронспецифической енолазы (NSE) в плазме крови в группе отравленных животных достоверно снизилась на 28,3 % по сравнению с интактной группой животных. Применение KSE-02 достоверно увеличило концентрацию NSE на 38,5 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация кальций связывающего белка S-100 в плазме

крови контрольной группы достоверно повышается на 56,4 % по сравнению с интактной группой. Применение пептидного экстракта гипофиза достоверно снижает концентрацию данного белка в плазме крови на 27,6 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация BDNF достоверных изменений в плазме крови без изменения освещения не показала. Таким образом, в условиях обычного освещения через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 использование фармакологической коррекции, особенно, KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг способствует активации процессов нейрегенерации.

В группе с постоянным освещением (Таблица 122) через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе при использовании фармакологической коррекции мелатонином концентрация GFAP в плазме крови достоверно снизилась на 19,6 %, а при использовании KSE-02 – на 29,3 % по сравнению с контрольной группой.

Таблица 122 – Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (постоянное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
S100, нг/мл	4,65±0,32	5,78±0,45#	4,1±0,4*	4,84±0,28	4,5±0,3*
BDNF, пг/мл	679,22±108,5	825,22±140,61	704,27±94,84	757,53±86,28	821,51±64,64
GFAP, пг/мл	35,4±4,8	48,27±3,43#	38,79±1,58*	34,13±4,58*	43,2±2,3
MBP, нг/мл	9,42±0,94	16,82±1,96#	11,58±1,0*	11,96±0,83*	11,34±0,95*
NSE, нг/мл	14626,97±521,51	11779,22±506,71#	13200,28±447,82*	13504,76±922,87	13067,56±680,34
Мелатонин, пг/мл	92,1±11,8	81,0±9,8#	159,3±18,9*	196,8±10,8*	189,9±14,0*
PEDF, нг/мл	220,69±15,81	256,0±6,3# №№#	230,06±12,21*	234,12±15,81	213,41±13,79*

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Концентрация основного белка миелина (MBP) после отравления тиопенталом натрия в контрольной группе достоверно увеличилась на 78,5 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологической коррекции KSE-02 достоверно снизило концентрацию MBP в

плазме крови на 31,1 %, использование мелатонина достоверно уменьшило концентрацию MBR на 28,8 %, применение пептидного экстракта гипофиза – на 32,5 % по сравнению с контрольной группой.

Концентрация белка PEDF – фактора дифференцировки из пигментного эпителия в контрольной группе достоверно увеличилась на 16,3 % по сравнению с интактной группой. В группе с фармакологической коррекцией KSE-02 концентрация PEDF в плазме крови достоверно снизилась на 10,1 %, клеточным экстрактом гипофиза – на 16,7 %, по сравнению с контрольной группой. Концентрация мелатонина в плазме крови достоверно понизилась в группе с отравлением тиопенталом натрия на 12,0 % по сравнению с интактной группой. Использование фармакологической коррекции KSE-02 достоверно повысило концентрацию мелатонина в плазме крови на 72,6 %, использование мелатонина - в 2,1 раза, пептидного экстракта гипофиза – в 2,1 раза по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой фармакологическая коррекция KSE-02 достоверно повысила концентрацию эндогенного мелатонина на 96,2 %, применение экзогенного мелатонина – в 2,4 раза, а применение пептидного экстракта гипофиза – в 2,3 раза. Концентрация NSE в плазме крови в группе отравленных животных достоверно снизилась на 19,4 % по сравнению с интактной группой животных. Применение KSE-02 достоверно увеличило концентрацию NSE в плазме крови на 12,1 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация кальций-связывающего белка S-100 в плазме крови контрольной группы достоверно повышается на 24,3 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 достоверно понижает концентрацию белка S-100 в плазме крови на 29,7 %, а использование пептидного экстракта гипофиза достоверно снижает концентрацию данного белка на 21,9 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, через 1 месяц эксперимента наибольший фармакологический эффект проявляет KSE-02 и мелатонин в дозе 100 мкг/кг.

В Таблице 123 представлены показатели нейротрофических факторов в плазме крови при постоянной темноте. В группе с постоянной темнотой через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе приводит к достоверному увеличению GFAP в плазме крови на 25,5 % по сравнению с интактной группой. При использовании KSE-02 концентрация GFAP в плазме крови достоверно снизилась на 18,0 %, а при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 23,2 % по сравнению с контрольной группой.

Таблица 123 – Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (постоянная темнота)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
S100, нг/мл	4,83±0,17	5,66±0,22#	4,93±0,39	4,42±0,27*	4,29±0,31*
BDNF, пг/мл	570,0±64,0	771,4±173,2	826,0±122,7	691,7±100,9	856,6±106,6#
GFAP, пг/мл	42,31±3,35	53,1±3,2#	43,53±1,96*	46,73±4,46	40,8±3,8*
MBP, нг/мл	9,76±1,17	15,82±1,37#	10,76±0,65*	12,01±1,24	11,66±1,06*
NSE, нг/мл	12797,45±66 6,75	10739,45±615,0 6#	12265,51±41 9,57*	13085,62±648 ,44*	12283,97±82 2,19
Мелатонин, пг/мл	267,3±31,0	104,9±8,9#	200,9±35,0*	225,5±37,4*	243,6±20,4*
PEDF, нг/мл	205,74±8,51	245,39±13,12#	200,34±9,93 *	225,82±11,08	217,52±11,47 *

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Концентрация MBP после «усиления окислительного давления» в контрольной группе достоверно увеличилась на 62,1 % по сравнению с интактной группой. В группе с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно снизилась концентрация MBP на 31,9 %, а с фармакологической коррекцией пептидным экстрактом гипофиза – на 26,6 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация белка PEDF в контрольной группе достоверно увеличилась на 19,5 % по сравнению с интактной группой. В группе с фармакологической коррекцией KSE-02 концентрация PEDF в плазме крови достоверно снизилась на 18,4 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 11,4 %, по сравнению с контрольной группой. Концентрация мелатонина в плазме крови достоверно понизилась в группе с отравлением тиопенталом натрия на 61,0 % по сравнению с интактной группой. Использование фармакологической коррекции KSE-02 достоверно повысило концентрацию мелатонина в плазме крови на 92,3 %, использование мелатонина - в 2,2 раза, пептидного экстракта гипофиза – в 2,3 раза по сравнению с контрольной группой. Концентрация NSE в плазме крови в группе отравленных животных достоверно снизилась на 16,1 % по сравнению с интактной группой животных. Применение KSE-02 достоверно увеличило концентрацию NSE в плазме крови на 14,2 %, применение мелатонина – на 21,8 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация кальций-связывающего белка S-100 в плазме крови контрольной группы

достоверно повышается на 17,1 % по сравнению с интактной группой. Применение мелатонина достоверно понижает концентрацию белка S-100 в плазме крови на 21,9 %, а использование пептидного экстракта гипофиза достоверно снижает концентрацию данного белка на 24,2 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация BDNF достоверно повысилась на 50,2 % при использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза по сравнению с интактной группой.

Таким образом, в условиях постоянной темноты наибольший фармакологический эффект проявили пептидный экстракт гипофиза и KSE-02 в дозе 100 мкг/кг.

В проведенном исследовании выявлено, что при обычном освещении через 1 месяц после «усиления окислительного давления» концентрация MBP в плазме крови увеличилась в 2,7 раза, при постоянном освещении – на 78,5 %, при постоянной темноте – на 62,1 % по сравнению с интактной группой. Это свидетельствует о превалировании деструктивных процессах в нервной ткани. Концентрация NSE в плазме крови при всех режимах освещения снизилась, чему способствует нарушение процессов энергетического обмена в клетках нервной системы. Использование препаратов фармакологической коррекции, особенно KSE-02 привело к увеличению концентрации данного фермента, что может быть связано с увеличенным синтезом NSE в клетках нервной ткани через 1 месяц после отравления. Положительным аспектом использования фармакологической коррекции, KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза, объясняется уменьшение концентрации в плазме крови глиального фибриллярного кислого белка. Естественно предположить, что одновременно с процессами нейродеструкции развиваются и процессы нейрогенерации [50]. В проведенном эксперименте были исследованы два белка из нейропротекторов: BDNF и PEDF. В результате эксперимента использования в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг достоверно повысило на 50,2 % концентрацию фактора BDNF при постоянной темноте по сравнению с интактной группой.

Применение фармакологической коррекции мелатонином, KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг повысило концентрацию фактора PEDF при обычном освещении. При измененном световом режиме концентрация PEDF в плазме крови под действием KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг снизилась. Возможно, это связано с усилением процессов ангиогенеза, как адаптации к гипоксии при длительном изменении режима освещения. Применение препаратов фармакологической коррекции способствовало снижению концентрации белка S-100 в плазме крови, что может быть связано с активным участием белка в клеточной сигнализации для стабилизации процессов метаболизма в клетках глии. Мелатонин как молекула с

полифункциональной потентностью также способствовал стабилизации процессов нейродеструкции и активации процессов нейрорегенерации.

Таким образом, использование фармакологической коррекции при изменении светового режима в течение одного месяца при «усилении окислительного давления» на клетки тканей мозга способствует активации процессов нейрорегенерации для восстановления клеток центральной нервной системы после полученного повреждения и адаптации к изменившимся условиям существования. Наибольший эффект оказали KSE-02 и пептидный экстракт гипофиза в дозе 100 мкг/кг.

С помощью двухфакторного дисперсионного анализа был оценен вклад исследуемых субстанций без десинхронизации (фактор А) и их взаимодействие с измененным световым режимом на концентрацию нейротрофических факторов в плазме крови. Через 1 месяц постоянного освещения после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 значимый эффект фармкоррекции KSE-02 проявился на показателях S-100 (ФД=0,224), MBP (ФД=0,202), PEDF (ФД=0,273). Взаимодействие субстанции KSE-02 и постоянного освещения проявилось на показателе PEDF (ФД=0,201). Аналогичные воздействия оказаны KSE-02 при постоянной темноте – S-100 (ФД=0,153), MBP (ФД=0,170), PEDF (ФД=0,227). Взаимодействие выявлено на показателе PEDF (ФД=0,270) (таблицы 124 – 125).

Таблица 124 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на концентрацию нейротрофических маркеров в плазме крови через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,224	0,006*	0,314	0,001*	$5,089 \times 10^{-6}$	0,988	0,462
GFAP	0,022	0,500	0,02	0,523	0,004	0,772	0,953
BDNF	0,004	0,672	0,527	0,001*	0,012	0,470	0,455
MBP	0,202	0,021*	0,047	0,243	0,097	0,099	0,653
PEDF	0,273	0,004*	0,001	0,896	0,201	0,011*	0,524
NSE	0,024	0,326	0,468	0,001*	0,016	0,415	0,489
мелатонин	0,005	0,729	0,026	0,436	0,136	0,085	0,832
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 125 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на концентрацию нейротрофических маркеров в плазме крови через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,153	0,028*	0,281	0,004*	0,025	0,342	0,540
GFAP	0,015	0,575	$1,88 \times 10^{-5}$	0,984	0,009	0,673	0,975
BDNF	0,020	0,322	0,494	$6,27 \times 10^{-5}$ *	0,095	0,038*	0,389
MBP	0,170	0,033*	0,054	0,212	0,122	0,067	0,652
PEDF	0,227	0,005*	0,025	0,315	0,270	0,003*	0,476
NSE	0,003	0,680	0,638	$7,69 \times 10^{-6}$ *	0,001	0,807	0,357
мелатонин	0,109	0,115	0,082	0,168	0,004	0,746	0,804

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина существенный эффект фармакологической коррекции через 1 месяц исследования проявился при постоянном освещении – GFAP (ФД=0,628), MBP (ФД=0,200) (Таблицы 126 –127).

Таблица 126 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на концентрацию нейротрофических маркеров в плазме крови через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А		Фактор В		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,122	0,062	0,182	0,025*	0,066	0,160	0,628
GFAP	0,628	$1,01 \times 10^{-5}$ *	0,003	0,676	0,0004	0,877	0,367
BDNF	0,0003	0,904	0,541	$7,8 \times 10^{-5}$ *	0,015	0,409	0,443
MBP	0,200	0,029*	0,013	0,550	0,056	0,225	0,729
PEDF	0,127	0,061	0,182	0,027*	0,045	0,250	0,645
NSE	0,109	0,094	0,168	0,041	0,013	0,544	0,709
мелатонин	0,012	0,583	0,032	0,386	0,120	0,104	0,833

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Взаимодействие мелатонина и постоянного освещения не проявилось В случае светового режима – постоянная темнота эффект исследуемой субстанции проявился на показателях, GFAP (ФД=0,700), MBP (ФД=0,183), PEDF (ФД=0,206). Эффект взаимодействия мелатонина и постоянной темноты проявился на показателе S-100 (ФД=0,165).

Таблица 127 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на концентрацию нейротрофических маркеров в плазме крови через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,043	0,226	0,24	0,007*	0,165	0,023*	0,551
GFAP	0,700	1,067 x 10 ⁻⁶ *	0,0005	0,847	0,004	0,581	0,294
BDNF	0,004	0,671	0,458	0,001*	0,037	0,232	0,499
MBP	0,183	0,038*	0,009	0,617	0,060	0,217	0,746
PEDF	0,206	0,018*	0,122	0,062	0,041	0,262	0,629
NSE	0,033	0,294	0,338	0,002*	0,054	0,182	0,573
мелатонин	0,037	0,370	0,062	0,252	0,001	0,915	0,899
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Через 1 месяц использования в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя фармакологический эффект субстанции проявился на показателе при постоянном освещении PEDF (ФД=0,169) и взаимодействие факторов выявлено на этом же показателе PEDF (ФД=0,243). При постоянной темноте фармакологический эффект субстанции проявился том же показателе PEDF (ФД=0,320) (таблицы 128-129).

Таблица 128 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на концентрацию нейротрофических маркеров в плазме крови через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,017	0,509	0,148	0,066	0,042	0,314	0,791

Продолжение Таблицы 128

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
GFAP	0,005	0,742	0,007	0,691	0,037	0,386	0,949
BDNF	0,010	0,469	0,567	$3,19 \times 10^{-5}$ *	0,023	0,293	0,398
MBP	0,077	0,209	0,003	0,808	0,002	0,808	0,917
PEDF	0,169	0,022*	0,029	0,315	0,243	0,007*	0,557
NSE	0,031	0,294	0,408	0,001*	0,013	0,485	0,546
мелатонин	0,013	0,575	0,045	0,312	0,097	0,145	0,844
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таблица 129 – Оценка воздействия клеточного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на концентрацию нейротрофических маркеров в плазме крови через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	0,001	0,876	0,164	0,046	0,099	0,114	0,734
GFAP	0,007	0,693	0,027	0,457	0,001	0,879	0,963
BDNF	0,055	0,109	0,472	$8,46 \times 10^{-5}$ *	0,080	0,054*	0,392
MBP	0,068	0,237	0,001	0,871	0,012	0,611	0,918
PEDF	0,320	0,001*	0,014	0,445	0,178	0,013*	0,487
NSE	0,004	0,657	0,558	$6,03 \times 10^{-5}$ *	0,001	0,918	0,437
мелатонин	0,021	0,500	0,078	0,199	0,002	0,836	0,897
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, наибольший эффект через 1 месяц светового десинхроноза оказало сукциноильное производное мелатонина KSE-02 в дозе 100 мкг/кг на показатели S-100, MBP и PEDF.

5.5.2 Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс через 3 месяца в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции

В группе с обычным освещением через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе использование фармакологической коррекции не привело к достоверным изменениям показателей нейродеструкции, таких как GFAP, MBP (Таблица 130).

Таблица 130 – Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (обычное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
S100, нг/мл	5,7±0,4	6,53±0,73	6,52±0,61	6,21±0,59	5,58±0,42
BDNF, пг/мл	330,8±53,1	302,5±47,9	347,5±36,7	383,6±42,3	415,1±37,2
GFAP, пг/мл	45,2±5,7	52,95±6,56	50,9±5,2	41,5±4,1	42,4±3,6
MBP, нг/мл	8,92±1,19	12,26±1,62	9,33±0,95	10,09±0,97	9,72±1,18
NSE, нг/мл	16961,4±946,4	15005,7±847,3	17918,8±924*	16673,2±810*	18072,7±1047,1*
Мелатонин, пг/мл	225,0±19,8	206,8±33,2	243,9±20,7	200,5±21,4	212,6±17,3
PEDF, нг/мл	184,5±12,8	209,6±17,6	261,91±18,34#*	229,8±23,07#	200,4±16,25
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Концентрация нейронспецифической енолазы (NSE) в плазме крови в группе отравленных животных и с использованием фармакологической коррекции KSE-02 достоверно повышается на 19,4 %, при использовании мелатонина – на 11,1 %, применение пептидного экстракта гипофиза достоверно повышает на 20,4 % по сравнению с контрольной группой животных. Показатель нейрорегенерации белок PEDF, его концентрация достоверно увеличилась на 41,8 % в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 мелатонином – на 24,4 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой в группах с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно увеличило концентрацию PEDF на 24,8 %. Концентрация BDNF достоверных изменений в плазме крови при использовании

фармакологической коррекции после острого отравления нейротоксикантом без изменения освещения не показала.

В Таблице 131 представлены данные о концентрации нейротрофических факторов при фармакологической коррекции через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в группе с постоянным освещением.

Таблица 131 – Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (постоянное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
S100, нг/мл	4,34±0,28	4,84±0,43	4,58±0,38	5,13±0,22#	5,1±0,3#
BDNF, пг/мл	402±62,81	462,9±52,5	492,8±49,7	535,4±50,0	507,5±36,4
GFAP, пг/мл	50,55±3,94	48,4±2,97	43,1±3,2	38,0±4,3#*	42,9±5,0
MBP, нг/мл	12,42±0,8	13,1±0,8	8,4±0,5#*	9,0±0,7#*	8,2±0,5#*
NSE, нг/мл	11883,3±415,5	11046,9±498,9	13485,9±595,9#*	14082,1±527,1*	13212,6±710,3*
Мелатонин, пг/мл	59,7±9,1	75,6±9,6	156,7±18,9#*	188,7±9,8#*	164,6±11,1#*
PEDF, нг/мл	237,55±8,67	231,1±7,6	209,9±7,4#*	215,1±6,5#	218,2±7,5#
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Использование фармакологической коррекции мелатонином приводит к достоверному понижению концентрации GFAP в плазме крови на 24,7 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой использование мелатонина достоверно понизило концентрация GFAP в плазме крови на 21,5 %. Использование фармакологической коррекции понижает концентрацию MBP в плазме крови. Так, применение KSE-02 достоверно снизило концентрацию MBP на 31,8 %, применение мелатонина – на 27,1 %, применение пептидного экстракта гипофиза – на 33,3 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой, фармакологическая коррекция KSE-02 достоверно снизила концентрацию MBP в плазме крови на 35,3 %, использование мелатонина - на 30,8 %, применение пептидного экстракта гипофиза – на 36,7 %. Концентрация белка PEDF – фактора

дифференцировки из пигментного эпителия достоверно снизилась на 11,8 % при использовании в качестве фармакологической коррекции KSE-02, на 9,3 % при использовании мелатонина, на 8,0 % при использовании пептидного экстракта гипофиза по сравнению с интактной группой. В группе с фармакологической коррекцией KSE-02 концентрация PEDF в плазме крови достоверно снизилась на 9,5 % по сравнению с контрольной группой. Использование фармакологической коррекции KSE-02 достоверно повысило концентрацию мелатонина в плазме крови в 2,6 раза, использование мелатонина – в 3,1 раза, пептидного экстракта гипофиза – в 2,8 раза по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой фармакологическая коррекция KSE-02 достоверно повысила концентрацию эндогенного мелатонина в 2,1 раза, применение экзогенного мелатонина – в 2,5 раза, а применение пептидного экстракта гипофиза – в 2,2 раза. Применение KSE-02 достоверно увеличило концентрацию NSE в плазме крови на 22,1 %, применение мелатонина – на 27,4 %, применение пептидного экстракта гипофиза – на 19,6 % по сравнению с контрольной группой. При сравнении с интактной группой применение мелатонина достоверно увеличило концентрацию NSE на 18,5 %. Применение мелатонина достоверно повышает концентрацию белка S-100 в плазме крови на 18,2 %, а использование пептидного экстракта гипофиза - на 18,8 % по сравнению с интактной группой. Концентрация BDNF достоверных изменений в плазме крови через три месяца после острого отравления нейротоксикантом и при постоянном освещении не показала. Все вещества, используемые для фармакологической коррекции, способствуют усилению процессов нейропротекции и восстановления после полученного повреждения и адаптации к изменению светового режима.

В Таблице 132 представлены данные о фармкоррекции концентрации нейротрофических факторов в группе с постоянной темнотой через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе.

Использование фармакологической коррекции KSE-02 приводит к достоверному снижению концентрации GFAP на 21,9 % в плазме крови, при использовании мелатонина – на 26,9 %, а при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 31,3 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой, использование KSE-02 достоверно снизило концентрацию GFAP на 23,0 %, применение мелатонина – на 27,9 %, пептидного экстракта гипофиза – на 32,2 %. В группе с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно снизилась концентрация MBP на 27,8 %, использование мелатонина достоверно снизило концентрацию MBP на 23,0 %, фармакологическая коррекция пептидным экстрактом гипофиза – на 16,9 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой фармакологическая коррекция KSE-02 достоверно снизила концентрацию MBP на 32,1 %,

коррекция мелатонином – на 27,6 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 22,0 %. Концентрация PEDF в плазме крови в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно снизилась на 14,1 %, мелатонином – на 11,4 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой концентрация PEDF достоверно снизилась на 17,9 % при фармакологической коррекции KSE-02, при использовании мелатонином – на 15,2 %. Концентрация мелатонина в плазме крови достоверно понизилась в группе с отравлением тиопенталом натрия на 25 % по сравнению с интактной группой. Использование фармакологической коррекции мелатонином достоверно повысило концентрацию мелатонина в плазме крови на 33,9 %, использование пептидного экстракта гипофиза – на 37,8 % по сравнению с контрольной группой.

Таблица 132 – Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (постоянная темнота)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
S100, нг/мл	4,6±0,3	5,04±0,29	5,31±0,25#	5,39±0,32#	5,24±0,26#
BDNF, пг/мл	470,3±40,9	509,1±49,68	536,0±53,4	494,3±36,7	464,9±35,8
GFAP, пг/мл	62,9±2,9	63,8±2,18	49,1±4,7#*	45,9±6,5#*	43,2±2,6#*
MBP, нг/мл	11,6±0,6	12,4±0,91	8,4±0,4#*	8,9±0,6#*	9,6±0,5#*
NSE, нг/мл	13534,0±307,9	12720,7±438,2	15529,3±915,9*	16107,2±793,2#*	15075,2±923,1*
Мелатонин, пг/мл	208,5±10,1	156,6±16,5#	194,4±12,2	209,5±18,8*	215,7±14,4*
PEDF, нг/мл	219,4±6,2	229,4±9,4	188,6±7,2#*	194,6±7,36#*	206,9±6,0

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Концентрация нейронспецифической енолазы в плазме крови в группе отравленных животных достоверно увеличилась на 19,0 % по сравнению с интактной группой животных. Применение KSE-02 достоверно увеличило концентрацию NSE в плазме крови на 22,1 %, применение мелатонина – на 26,6 %, пептидного экстракта гипофиза – на 18,5 % по сравнению с контрольной группой животных. Применение KSE-02 достоверно повышает концентрацию белка S-100 в плазме крови достоверно на 15,4 %, использование мелатонина – на 17,1 %,

пептидного экстракта гипофиза – на 13,9 % по сравнению с интактной группой. Концентрация BDNF достоверных изменений не проявила при использовании фармакологической коррекции.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что эффект фармакологической коррекции KSE-02 через 3 месяца исследования факторов при постоянном освещении проявился на показателях MBP (ФД=0,381), NSE (ФД=0,200), мелатонин (ФД=0,135). Эффект взаимодействия проявился на показателе PEDF(ФД=0,239), как и через 1 месяц исследования (таблица 133).

Таблица 133 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на концентрацию нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
S-100	0,002	0,813	0,349	0,003*	0,002	0,820	0,646
BDNF	0,020	0,435	0,337	0,004*	0,001	0,873	0,641
GFAP	0,026	0,451	0,074	0,213	0,005	0,731	0,894
MBP	0,381	0,002*	$3,43 \times 10^{-6}$	0,991	0,019	0,431	0,598
NSE	0,200	0,001*	0,493	$1,442 \times 10^{-5}$ *	0,002	0,751	0,304
мелатонин	0,135	0,015*	0,462	$8,48 \times 10^{-5}$ *	0,018	0,334	0,383
PEDF	0,042	0,273	0,041	0,282	0,239	0,014*	0,676
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект фармакологической коррекции KSE-02 через 3 месяца исследования факторов при постоянной темноте проявился на показателях MBP (ФД=0,339), NSE (ФД=0,306). Эффект взаимодействия проявился на показателе PEDF(ФД=0,316), как и через 1 месяц исследования (Таблица 134).

Таблица 134 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на концентрацию нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	0,003	0,796	0,256	0,015*	0,002	0,789	0,738
BDNF	0,015	0,456	0,457	0,001*	0,001	0,849	0,526
GFAP	0,112	0,107	0,032	0,373	0,064	0,214	0,79
MBP	0,339	0,004*	0,004	0,717	0,008	0,623	647
NSE	0,306	0,002*	0,204	0,008*	0,0001	0,949	0,488
мелатонин	0,102	0,105	0,182	0,035*	$7,70 \times 10^{-6}$	0,988	0,714
PEDF	0,004	0,687	0,104	0,071	0,316	0,003*	0,574
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект фармакологической коррекции мелатонином через 3 месяца исследования факторов при постоянном освещении проявился на показателях GFAP (ФД=0,209), MBP (ФД=0,280), NSE (ФД=0,210), мелатонин (ФД=0,140). Эффект взаимодействия проявился на показателе мелатонин (ФД=0,175) (Таблица 135).

Таблица 135– Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на концентрацию нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	$2,48 \times 10^{-5}$	0,979	0,254	0,015*	0,012	0,570	0,732
BDNF	0,076	0,128	0,316	0,004*	0,001	0,930	0,606
GFAP	0,209	0,029*	0,026	0,411	0,001	0,912	0,763
MBP	0,280	0,010*	0,0002	0,931	0,025	0,401	0,693
NSE	0,210	0,002*	0,408	0,001*	0,017	0,333	0,362

Продолжение Таблицы 135

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
мелатонин	0,140	0,018*	0,251	0,002*	0,175	0,009*	0,431
РЕДФ	0,0009	0,890	0,002	0,828	0,064	0,252	0,932
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект фармакологической коррекции мелатонином через 3 месяца исследования факторов при постоянной темноте проявился на показателях GFAP (ФД=0,262), MBP (ФД=0,241), NSE (ФД=0,317). Эффект взаимодействия не проявился (Таблица 136).

Таблица 136– Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на концентрацию нейротрофических факторов в плазме крови через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	$4,30 \times 10^{-5}$	0,973	0,195	0,037*	0,016	0,523	0,787
BDNF	0,016	0,464	0,369	0,001*	0,033	0,294	0,580
GFAP	0,262	0,010*	0,072	0,152	0,012	0,547	0,653
MBP	0,241	0,018*	0,007	0,658	0,020	0,570	0,738
NSE	0,317	0,003*	0,100	0,068	0,036	0,259	0,545
мелатонин	0,142	0,331	0,033	0,388	0,068	0,219	0,856
РЕДФ	0,009	0,646	0,01	0,627	0,130	0,094	0,849
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя эффект фармакологической коррекции через 3 месяца исследования при постоянном освещении проявился на показателях GFAP (ФД=0,209), MBP (ФД=0,280), NSE (ФД=0,210), мелатонин (ФД=0,140). Значительного эффекта взаимодействия не выявлено (Таблица 137).

Таблица 137 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на концентрацию нейротрофических факторов через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	0,014	0,536	0,17	0,046	0,06	0,219	0,754
BDNF	0,099	0,089	0,257	0,009*	0,018	0,449	0,625
GFAP	0,122	0,106	0,007	0,683	0,011	0,606	0,858
MBP	0,338	0,003*	0,002	0,794	0,032	0,322	0,627
NSE	0,174	0,004*	0,494	$2,18 \times 10^{-5}$ *	0,005	0,580	0,326
мелатонин	0,111	0,028*	0,399	0,001*	0,086	0,049*	0,402
PEDF	0,031	0,410	0,097	0,149	0,0008	0,891	0,87
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя эффект фармакологической коррекции через 3 месяца исследования при постоянной темноте проявился на показателях GFAP (ФД=0,376), MBP (ФД=0,212), NSE (ФД=0,255). Эффект взаимодействия факторов не проявился (Таблица 138).

Таблица 138 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на концентрацию нейротрофических факторов через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
S-100	0,025	0,426	0,149	0,062	0,057	0,233	0,767
BDNF	0,019	0,436	0,269	0,007*	0,100	0,084	0,61
GFAP	0,376	0,001*	0,053	0,171	0,038	0,239	0,531
MBP	0,212	0,031*	$6,811 \times 10^{-5}$	0,967	0,0002	0,935	0,787
NSE	0,255	0,004*	0,242	0,005*	0,004	0,677	0,497

Продолжение Таблицы 138

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		A+B		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
мелатонин	0,089	0,150	0,047	0,290	0,061	0,233	0,802
PEDF	0,063	0,244	0,043	0,310	0,011	0,620	0,881
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Таким образом, использование фармакологической коррекции KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 3 месяца светового десинхроноза способствует изменению концентрации нейротрофических факторов MBP, NSE. При этом взаимодействие выявлено по фактору PEDF, обладающему антиангиогенными, противоопухолевыми и нейротрофическими функциями. При коррекции мелатонином и клеточным экстрактом гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 3 месяца измененного светового режима влияние оказывается на одинаковый спектр факторов при разных световых режимах, GFAP, MBP, NSE. Эффекта взаимодействия не обнаружено.

Таким образом, исследуемые субстанции для фармакологической коррекции биохимических сдвигов в эритроцитах и в тканях головного мозга крыс оказывают антиоксидантное, метаболическое, нейропротекторное и хронобиотическое действие при хроническом световом десинхронозе. Индикатором снижения внутреннего дисхронизма между эндогенными клеточными осцилляторами являются изменения поведения и когнитивных навыков животных при изменении светового режима.

5.6 Поведенческие показатели крыс в условиях светового десинхроноза при фармакологической коррекции

5.6.1. Фармакологическая коррекция поведенческих показателей крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.

В Таблице 139 представлены данные фармакологической коррекции в тесте ОП у крыс-самцов через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 при обычном освещении. В результате применения фармакологической коррекции через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия у животных, находящихся при обычном освещении, в тесте «Открытое поле» было выявлено достоверное снижение горизонтальных перемещений во

всех группах с фармакологической коррекцией: при использовании KSE-02 на 41,2 %, мелатонина – на 43,2 %, пептидного экстракта гипофиза - на 36,9 % по сравнению с интактной группой.

Таблица 139 – Фармакологическая коррекция показателей теста ОП у крыс-самцов при обычном освещении через 1 месяц после «усиления окислительного давления»

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Горизонтальные перемещения, число актов	90,6±20,5	43,8±7,7#	53,3±8,6#	51,4±7,1#	57,1±5,2#
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	52,3±7,4	35,1±4,1#	36,8±3,4	35,2±4,1	35,0±2,7#
Груминг, число актов	23,8±5,6	35,7±5,9	27,0±6,2	30,7±5,5	21,5±2,3
Среднее расстояние, пройденное животным, м	3,5±0,4	2,2±0,3#	2,8±0,5	2,9±0,4	3,0±0,3
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	2,7±0,4	1,8±0,2#	2,3±0,4	2,2±0,3	2,2±0,2
Общая двигательная активность, число актов	142,9±27,7	78,9±11,6#	90,1±10,8	86,6±10,3#	92,1±6,2#
Двигательная активность в центре площадки, число актов	23,0±6,4	5,0±0,9#	10,0±1,5#*	9,7±1,6#*	9,1±1,0#*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	119,9±21,5	73,9±11,1	80,1±9,8	76,9±9,1	83,0±5,5
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

В группе контроля также снижено количество горизонтальных перемещений на 51,6 % по сравнению с интактной группой. Количество вертикальных стоек при данном типе освещения достоверно снизилось в контрольной группе на 32,8 %, в группе с фармакологической коррекцией пептидным экстрактом гипофиза – на 33,1 % по сравнению с интактной группой.

Среднее расстояние, пройденное животными, достоверно снижается в контрольной группе на 37,1 % по сравнению с интактной группой. В группах с фармакологической коррекцией данный показатель не показал достоверных изменений. Средняя скорость, развиваемая животными, достоверно снизилась в контрольной группе на 33,3 % по сравнению

с интактной группой. В группах с фармакологической коррекцией средняя скорость движения животных приближается к уровню интактной группы, но данные изменения недостоверны.

Общая двигательная активность в контрольной группе достоверно снижается на 44,7 % по сравнению с интактной группой. Применение мелатонина достоверно снижает общую двигательную активность на 39,3 % , клеточного экстракта гипофиза – на 35,5 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой общая двигательная активность в группах с фармкоррекцией выше, чем в контрольной группе, но данные изменения недостоверны. Двигательная активность в центре площадки в контрольной группе достоверно снизилась на 78,9 %, при использовании KSE-02 – на 56,5 %, мелатонина – на 57,8 %, клеточного экстракта гипофиза – на 60,4 % по сравнению с интактной группой. При сравнении с контрольной группой двигательная активность в центре достоверно повысилась: при использовании KSE-02 в 2 раза, мелатонина – на 94,5 %, клеточного экстракта гипофиза – на 82 %. Двигательная активность животных на периферии площадки достоверно не изменилась ни при одном из вариантов фармакологической коррекции.

Таким образом, ориентировочно-исследовательская деятельность животных после однократного острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 без изменения светового режима через 1 месяц эксперимента понижается. Это выражается в снижении горизонтальной и вертикальной активности, в снижении средней скорости передвижения. Также снижается общая двигательная активность животных, но при этом двигательная активность крыс в центре площадки на фоне применения фармакологических субстанций значительно повышается. Тест открытое поле, основанный на помещении животного в незнакомую ситуацию с ярким освещением, что является стрессовой ситуацией для организма. В тесте оценивается не только ориентировочно-двигательная активность, но и индивидуальная устойчивость животного к эмоциональному стрессу. В нашем исследовании результаты фармакологической коррекции свидетельствуют о повышении стрессоустойчивости животных, способствуют повышению двигательной активности в центре площадки отравленных животных, что характеризует повышение «положительной» агрессии у животных (смелости, отваги).

В Таблице 140 представлены данные фармакологической коррекции теста ОП при постоянном освещении у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного давления». Результатом применения фармакологической коррекции через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия у животных, находящихся при постоянном освещении, в тесте открытое поле было выявлено достоверное увеличение горизонтальных перемещений на 58,8 %, вертикальных стоек – на 39,0 % в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 по сравнению с контрольной группой. В остальных группах с применением фармкоррекции

горизонтальная активность количество вертикальных стоек также увеличилась, но данные изменения недостоверны. Количество умываний животными (груминг), характеризующее пассивно-оборонительное поведение животных, достоверно снижается в контрольной группе на 42,2 %, в группе с применением KSE-02 – на 29,3 %, мелатонина – на 32,2 % по сравнению с интактной группой.

Таблица 140 – Фармакологическая коррекция показателей теста ОП у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Горизонтальные перемещения, число актов	111,9±24,2	68,1±9,1	108,2±11,8*	97,7±14,2	96,2±13,9
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	65,2±12,1	39,2±4,0	54,5±4,1*	45,0±4,2	42,9±3,4
Груминг, число актов	48,3±4,3	27,9±3,7#	34,1±4,5#	32,7±5,4#	39,4±5,1
Среднее расстояние, пройденное животным, м	4,2±0,4	3,1±0,4#	4,9±0,3*	3,7±0,4	4,1±0,3*
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	3,2±0,3	2,3±0,3	4,1±0,3*	3,1±0,3*	3,5±0,3*
Общая двигательная активность, число актов	177,1±35,1	107,3±13,0	162,7±15,6*	142,7±17,4	139,1±15,7*
Двигательная активность в центре площадки, число актов	30,7±9,1	9,5±1,3	21,1±2,7*	15,0±1,9*	13,5±1,4*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	146,4±26,1	97,8±12,0	141,6±15,6*	127,7±16,2	125,6±15,6

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Среднее расстояние, пройденное животными контрольной группы, достоверно снизилось на 26,2 % по сравнению с интактной группой. Использование фармакологической коррекции мелатонином достоверно увеличило этот показатель на 57,8 %, пептидного экстракта гипофиза – на 42,1 % по сравнению с контрольными животными. Применение фармкоррекции повысило показатель средней скорости животных при передвижении. Использование KSE-02 увеличило показатель средней скорости на 78,2 %, мелатонина – на 34,7 %, пептидного экстракта гипофиза – на 52,2 % по сравнению с контрольными животными.

Общая двигательная активность животных увеличилась при использовании KSE-02 на 51,6 %, клеточного экстракта гипофиза - на 29,6 % при сравнении с контрольными животными. При этом двигательная активность в центре повысилась при использовании KSE-02 – на 22,1 %, мелатонина – на 57,8 %, пептидного экстракта гипофиза – на 42,1 % по сравнению с контролем. Двигательная активность животных по периферии достоверно повысилась только при использовании KSE-02 на 44,7 % по сравнению с контролем.

Применение фармакологической коррекции повышает двигательную активность животных, приближает к активности интактных животных, проживающих при обычном световом режиме. Снижается эффект пассивно-оборонительного поведения у животных, проживающих при различных режимах освещенности. Наибольший фармакологический эффект оказал пептидный экстракт гипофиза Северного оленя по сравнению с двумя другими веществами.

В Таблице 141 представлены данные фармакологической коррекции теста ОП при постоянной темноте у крыс-самцов через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия. Через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия у животных, находящихся при постоянной темноте, в тесте ОП было выявлено достоверное снижение горизонтальной активности в контрольной группе на 51,5 %, при использовании KSE-02 – на 20,7 %, мелатонина – на 44,6 %, пептидного экстракта гипофиза – на 23,1 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой применение KSE-02 увеличило горизонтальную активность на 63,5 %, мелатонина – на 14,2 %, пептидного экстракта гипофиза – на 58,7 %. Достоверные изменения наблюдаются и в количестве вертикальных стоек животных. В контрольной группе количество стоек снизилось на 51,2 %, при использовании KSE-02 – на 29,4 %, мелатонина – на 34,9 %, пептидного экстракта гипофиза – на 31,8 % по сравнению с интактной группой. Применение фармкоррекции KSE-02 достоверно увеличило вертикальную активность животных на 44,5 %, мелатонина – на 33,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 39,6 % по сравнению с контрольной группой. Количество умываний в контрольной группе достоверно снизилось на 24,7 % по сравнению с интактной группой. В случае сравнения с контрольной группой применение KSE-02 достоверно увеличило количество умываний на 71,5 %. Среднее расстояние, пройденное животными контрольной группы, достоверно снизилось на 52,3 % по сравнению с интактной группой. Средняя скорость, развиваемая животными в контрольной группе, достоверно снизилась на 51,5 %, в группе с использованием мелатонина – на 36,3 по сравнению с интактной группой.

Таблица 141 – Фармакологическая коррекция показателей теста ОП у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Горизонтальные перемещения, число актов	103,0±21,2	49,9±5,9#	81,6±8,5#*	57,0±7,1#*	79,2±10,1# *
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	62,1±11,1	30,3±3,4#	43,8±4,2#*	40,4±3,6#*	42,3±3,5#*
Груминг, число актов	23,4±2,7	17,6±3,3#	30,2±3,5*	23,5±4,1	25,4±2,1
Среднее расстояние, пройденное животным, м	4,2±0,5	2,0±0,2#	3,7±0,3	2,5±0,3	3,4±0,2
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	3,3±0,4	1,6±0,2#	3,0±0,2*	2,1±0,3#	2,9±0,2*
Общая двигательная активность, число актов	165,1±32,3	80,2±7,9#	125,4±11,5 *	97,4±9,9	121,5±12,3 *
Двигательная активность в центре площадки, число актов	14,5±2,6	4,7±0,8#	12,4±1,8*	7,6±1,2#	13,7±1,8*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	150,6±30,2	75,5±7,4#	113,0±10,5 *	89,8±9,1	107,8±12,4 *
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Использование KSE-02 достоверно увеличило среднюю скорость животных на 87,5 %, применение пептидного экстракта гипофиза -на 81,3 % по сравнению с контрольной группой. Достоверно снижается общая двигательная активность животных контрольной группы на площадке открытого поля, на 51,4 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 достоверно повысило активность животных на 56,3 %, использование пептидного экстракта гипофиза Северного оленя - на 51,4 % по сравнению с контрольной группой. При этом двигательная активность крыс в центре площадки в контрольной группе понизилась на 67,5 %, при использовании мелатонина – на 47,5 % по сравнению с интактной группой. Применение KSE-02 достоверно повысило в 2,6 раза двигательную активность животных в центре площадки, а применение пептидного экстракта гипофиза – в 2,9 раза по сравнению с контрольной группой. Двигательная активность животных на периферии в контрольной группе

достоверно снизилась на 49,8 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологической коррекции KSE-02 достоверно повысило данный вид активности на 49,6 %, применение пептидного экстракта гипофиза – на 42,7 % по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, через 1 месяц после «усиления окислительного давления» и постоянной темноты у животных наблюдается снижение горизонтальной и вертикальной двигательной активности. Снижается средняя скорость, развиваемая животными, изменяется эмоциональный статус, наблюдается апатия, депрессия. Применение фармакологической коррекции способствует повышению двигательной активности крыс, улучшению эмоциональной компоненты и приближается к уровню активности и эмоционального состояния животных из интактной группы. Некоторые компоненты активного поведения крыс перешли в груминг с целью формирования стрессоустойчивости к воздействию постоянной темноты. Наилучший эффект оказали экспериментальные субстанции KSE-02 и пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что через 1 месяц исследования эффект фармакологической коррекции поведения животных соединением KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при постоянном освещении в тесте ОП эффект достоверно проявился на показателях ГП (ФД= 0,109), СР (ФД=0,151), ССк (ФД= 0,201), ОДА (ФД=0,109), ДАЦ (0,273). Эффекта взаимодействия не обнаружено (Таблица 142).

Таблица 142 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на поведенческие показатели крыс через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,109	0,012*	0,279	0,0001*	0,041	0,113	0,569
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,091	0,037	0,149	0,008*	0,058	0,092	0,700
Груминг, число актов	0,001	0,810	0,0001	0,945	0,054	0,159	0,944
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,151	0,003*	0,233	0,0004*	0,04	0,120	0,574
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,201	0,001*	0,188	0,001*	0,058	0,050*	0,552

Продолжение Таблицы 142

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Общая двигательная активность, число актов	0,109	0,013*	0,252	0,0003*	0,048	0,094	0,590
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,273	3,4x10 ⁻⁵ *	0,241	8,12 x10 ⁻⁵ *	0,043	0,068	0,441
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,075	0,049*	0,221	0,001*	0,042	0,135	0,660
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект фармакологической коррекции поведения животных соединением KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при постоянной темноте в тесте ОП примерно в одинаковой степени проявился на показателях ГП (ФД= 0,141), СР (ФД=0,212), ССк (ФД= 0,255), ОДА (ФД=0,146), ДАЦ (0,373), ДАП (ФД=0,106). Эффект взаимодействия обнаружен на показателе груминга (ФД=0,108) (Таблица 143).

Таблица 143 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на поведенческие показатели крыс через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,141	0,011*	0,098	0,03*	0,041	0,160	0,719
Вертикальные перемещения (стойки),	0,093	0,050*	0,001	0,774	0,056	0,130	0,847
Груминг, число актов	0,003	0,693	0,053	0,138	0,108	0,036*	0,834
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,212	0,002*	0,021	0,303	0,049	0,123	0,715
Средняя скорость, развиваемая животным,	0,255	0,001*	0,020	0,305	0,055	0,093	0,669
Общая двигательная активность, число актов	0,146	0,011*	0,061	0,091	0,053	0,116	0,738
Двигательная активность в центре площадки, число	0,373	3,4x10 ⁻⁵ *	0,010	0,439	0,016	0,321	0,599

Продолжение Таблицы 143

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Двигательная активность на периферии площадки,	0,106	0,031*	0,066	0,086	0,054	0,118	0,771
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект фармакологической коррекции поведения животных мелатонином в дозе 100 мкг/кг при постоянной темноте в тесте ОП значительно проявился только на показателе ДАЦ (0,685). Эффекта взаимодействия не обнаружено (Таблица 144).

Таблица 144 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на поведенческие показатели через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,065	0,068	0,237	0,001*	0,023	0,274	0,673
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,012	0,478	0,071	0,100	0,012	0,493	0,903
Груминг, число актов	$9,9 \times 10^{-6}$	0,984	0,008	0,581	0,023	0,353	0,967
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,070	0,088	0,104	0,039*	0,0003	0,899	0,824
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,094	0,044	0,106	0,034*	0,007	0,555	0,791
Общая двигательная активность, число актов	0,052	0,115	0,201	0,003*	0,021	0,306	0,724
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,685	$1,4 \times 10^{-12}$ *	0,054	0,005*	0,039	0,015*	0,220
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,036	0,192	0,188	0,004*	0,024	0,285	0,749
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Эффект фармакологической коррекции поведения животных мелатонином в дозе 100 мкг/кг при постоянной темноте в тесте ОП также существенно проявился на показателе ДАЦ (0,779). Эффекта взаимодействия не обнаружено (Таблица 145).

Таблица 145 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на поведенческие показатели через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,029	0,299	0,018	0,407	$3,4 \times 10^{-5}$	0,971	0,952
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,045	0,190	$6,9 \times 10^{-5}$	0,958	0,043	0,198	0,911
Груминг, число актов	0,154	0,926	0,028	0,012	0,816	0,267	0
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,082	0,077	0,022	0,347	0,003	0,698	0,891
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,094	0,059	0,006	0,601	0,0008	0,857	0,897
Общая двигательная активность, число актов	0,040	0,222	0,009	0,549	0,005	0,638	0,944
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,799	$2,6 \times 10^{-14*}$	0,002	0,468	0,003	0,443	0,194
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,023	0,356	0,016	0,438	0,009	0,545	0,95
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Влияние пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц исследования при постоянном освещении выявило достоверное воздействие данного вещества на показатели СР (ФД=0,318), ССк (ФД= 0,163), ДАЦ (0,189), ДАП (ФД=0,374). Эффект взаимодействия обнаружен на показателе груминга (ФД=0,180) и на показателе ДАП (ФД= 0,273) (Таблица 146).

Таблица 146 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на поведенческие показатели через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,090	0,036*	0,211	0,001*	0,011	0,441	0,686
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,006	0,621	0,070	0,105	0,007	0,602	0,916
Груминг, число актов	0,001	0,765	0,027	0,267	0,180	0,006*	0,790
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,318	0,0001*	0,026	0,226	0,026	0,226	0,628
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,163	0,004*	0,173	0,003*	0,031	0,190	0,632
Общая двигательная активность, число актов	0,069	0,071	0,194	0,003*	0,011	0,488	0,724
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,189	0,001*	0,228	0,001*	$2,9 \times 10^{-5}$	0,966	0,581
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,374	$2,92 \times 10^{-7}$ *	0,011	0,281	0,273	$4,8 \times 10^{-6}$ *	0,341
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Влияние пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц исследования при постоянной темноте выявило достоверное воздействие данного вещества на показатели ГП (ФД=0,166), СР (ФД=0,460), ССк (ФД= 0,306), ОДА (ФД=0,159), ДАЦ (0,405), ДАП (ФД=0,107). Эффект взаимодействия не обнаружен (таблица 147).

Таким образом, фармакологическая коррекция KSE-02 и пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц эксперимента оказала наибольший фармакологический эффект на ориентировочно-двигательную активность животных в разных режимах освещения. Мелатонин оказал существенный эффект только на двигательную активность животных в центре площадки при постоянном освещении и при постоянной темноте

Таблица 147 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на поведенческие показатели через 1 месяц эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случа й
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,166	0,007*	0,072	0,067	0,023	0,291	0,737
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,069	0,095	0,003	0,720	0,072	0,089	0,855
Груминг, число актов	0,014	0,396	0,073	0,065	0,177	0,005*	0,734
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,460	$1,21 \times 10^{-6}$ *	0,036	0,107	0,013	0,321	0,489
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,306	0,0001*	0,019	0,291	0,065	0,050*	0,609
Общая двигательная активность, число актов	0,159	0,008*	0,05	0,127	0,042	0,161	0,747
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,405	$3,97 \times 10^{-6}$ *	0,043	0,082	0,056	0,049*	0,494
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,107	0,036*	0,043	0,174	0,033	0,231	0,815
Примечание – * – Достоверность при $p \leq 0,05$							

5.6.2. Фармакологическая коррекция поведенческих показателей крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.

В Таблице 148 представлены данные фармакологической коррекции теста ОП у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при обычном освещении. В результате применения фармакологической коррекции через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия у животных при обычном освещении в тесте ОП не было выявлено достоверного увеличения горизонтальной активности животных на площадке поля. Достоверные изменения наблюдаются в количестве вертикальных стоек животных. В случае сравнения с интактной группой в контрольной группе количество стоек снизилось на 23,0 %, при использовании пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 17,3 %. Наблюдается достоверное увеличение количества умываний в контрольной группе на 75,9 %, а при

использовании пептидного экстракта гипофиза наоборот, снижение – на 3,3 % по сравнению с интактной группой. Достоверных изменений в пройденном животными расстоянии не наблюдалось при данном типе освещения.

Таблица 148 – Фармакологическая коррекция показателей теста ОП у крыс-самцов при обычном освещении через 3 месяца после «усиления окислительного давления»

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Горизонтальные перемещения, число актов	52,8±5,3	42,1±6,1	48,7±10,2	58,1±8,0	57,6±8,1
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	36,4±3,0	28,0±2,7#	28,6±4,5	32,8±2,8	30,1±1,2#
Груминг, число актов	21,2±4,4	37,3±6,1#	16,6±3,3	17,2±2,9	20,5±2,4#
Среднее расстояние, пройденное животным, м	3,0±0,3	2,7±0,3	2,3±0,5	3,1±0,4	3,2±0,4
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	2,5±0,2	1,9±0,2#	1,7±0,5#	2,5±0,4	2,6±0,3*
Общая двигательная активность, число актов	89,2±7,5	70,1±7,6	76,3±14,1	90,9±10,7	88,7±8,6
Двигательная активность в центре площадки, число актов	13,7±3,9	7,0±1,3	10,6±2,3	11,6±1,3*	12,2±2,3*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	75,5±5,4	63,1±6,8	65,7±12	79,3±9,4	76,5±6,9
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Достоверные изменения наблюдаются в средней скорости, которую развивают животные. Так, в контрольной группе скорость достоверно снизилась на 24,0 %, при использовании KSE-02 – на 32 % по сравнению с интактной. При этом достоверные изменения наблюдаются в двигательной активности животных в центре площадки. При использовании мелатонина активность увеличивается на 65,7 %, пептидного экстракта гипофиза – на 74,2 % по сравнению с контрольной группой. Двигательная активность животных на периферии поля приближается к показателям интактной группы, но данные изменения недостоверны. Таким образом, через 3 месяца после «усиления окислительного давления» без изменения светового режима, использование фармакологической коррекции мелатонином и пептидным экстрактом

гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг привело к достоверному увеличению эмоциональной составляющей поведения животных. Достоверных изменений в общей двигательной активности животных при использовании фармакологической коррекции не выявлено.

В Таблице 149 представлены данные фармакологической коррекции теста ОП у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении.

Таблица 149 – Фармакологическая коррекция показателей теста ОП у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Горизонтальные перемещения, число актов	40,2±5	32,5±1,7	38,6±4,0	42,5±3,4*	43,3±3,0*
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	25,0±3,1	18,4±1,3	24,0±1,4*	24,8±2,3*	27,4±2,2*
Груминг, число актов	23,6±2,7	17,1±1,0	21,3±1,9	23,0±1,4*	22,3±1,9*
Среднее расстояние, пройденное животным, м	2,1±0,2	1,7±0,1	2,0±0,1*	2,1±0,1*	2,0±0,1
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	1,7±0,2	1,2±0,1	1,6±0,1*	1,6±0,1*	1,7±0,1*
Общая двигательная активность, число актов	66,2±5,2	50,9±2,2	62,6±4,8	67,3±5,4*	70,7±4,6*
Двигательная активность в центре площадки, число актов	4,6±0,9	1,7±0,3	4,0±0,7*	4,9±0,7*	5,9±0,7*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	61,6±5,8	49,2±2,0	58,6±4,6	62,4±5,0	64,8±4,0*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

В результате применения фармакологической коррекции через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия у животных, находящихся при постоянном освещении, в тесте ОП было выявлено достоверное увеличение горизонтальных перемещений при использовании мелатонина – на 30,8 %, пептидного экстракта гипофиза - на 33,2 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Применение фармакологической коррекции KSE-02 количество вертикальных стоек животных достоверно

увеличилось на 30,4 %, мелатонином – на 34,7 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 48,9 % по сравнению с контролем. Количество умываний при использовании мелатонина достоверно увеличилось на 34,5 %, при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 30,4 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Среднее расстояние, пройденное животными при данном освещении, при использовании фармакологической коррекции KSE-02 достоверно увеличилось на 17,6 %, при использовании мелатонина – на 23,5 % по сравнению с контрольной группой. Средняя развиваемая животными скорость при использовании KSE-02 и мелатонина достоверно увеличилась на 33,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 41,6 % по сравнению с контролем. Общая двигательная активность при использовании мелатонина достоверно увеличилась на 32,2 %, пептидного экстракта гипофиза – на 38,8 % по сравнению с контрольной группой. При этом двигательная активность в центре площадки достоверно увеличивается при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции, так при использовании KSE-02 в 2,4 раза, мелатонина и пептидного экстракта гипофиза – в 2,8 раза по сравнению с контрольной группой. Двигательная активность животных на периферии площадки достоверно увеличивается только при использовании пептидного экстракта гипофиза на 31,7 % по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима на постоянное освещение исследовательско-ориентировочная активность экспериментальных животных при использовании фармакологической коррекции приблизилась к уровню интактных животных. На изменение двигательной активности наилучший эффект оказали соединения мелатонина и его аналога. При оценивании эмоциональной составляющей данного теста, наибольший эффект оказал пептидный экстракт гипофиза Северного оленя. Это выражается в увеличении двигательной активности в центре площадки, а также в усилении пассивно-оборонительного поведения.

В Таблице 150 представлены данные фармакологической коррекции теста ОП у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте. В результате фармакологической коррекции через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия в полулетальной дозе у животных, находящихся при постоянной темноте, в тесте ОП было выявлено достоверное увеличение горизонтальных перемещений при использовании мелатонина на 34,5 %, пептидного экстракта гипофиза – на 43,3 % по сравнению с контрольной группой.

Таблица 150 – Фармакологическая коррекция показателей теста ОП у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при постоянной темноте

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатони н	Гипофиз
Горизонтальные перемещения, число актов	24,2±3,3	22,6±1,6	27,5±2,1	30,4±1,8*	32,4±1,7*
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	16,9±2,9	14,2±0,9	17,8±0,8*	20,7±1,2*	21,1±1,4*
Грумминг, число актов	13,4±1,5	10,5±0,7	15,9±1,1*	14,2±0,9*	16,0±1,4*
Среднее расстояние, пройденное животным, м	1,51±0,26	1,2±0,11	1,68±0,12*	1,72±0,07*	1,7±0,1*
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	1,17±0,2	0,81±0,07	1,3±0,1*	1,24±0,07*	1,28±0,06*
Общая двигательная активность, число актов	41,1±5,9	37,0±2,2	45,3±2,7*	51,1±2,7*	53,5±2,8*
Двигательная активность в центре площадки, число актов	4,1±0,7	2,0±0,4#	3,9±0,2*	3,6±0,4*	3,8±0,4*
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	37,0±5,5	35,0±2,0	41,4±2,5	47,5±2,5*	49,7±2,5#*
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Количество вертикальных стоек при использовании всех вариантов фармакологической коррекции достоверно увеличилось, так при использовании аналога мелатонина KSE-02 - на 25,3 %, мелатонина – на 45,7 %, пептидного экстракта гипофиза – на 48,5 % по сравнению с контрольной группой. Грумминг животных достоверно увеличился при использовании KSE-02 – на 51,4 %, мелатонина – на 35,2 %, пептидного экстракта гипофиза – на 52,3 % по сравнению с контролем. Среднее расстояние, пройденное животными, достоверно увеличилось при применении KSE-02 – на 40,0 %, мелатонина – на 43,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 41,6 % по сравнению с контрольной группой. Достоверно увеличилась и средняя скорость животных на площадке, при использовании KSE-02 – на 60,4 %, мелатонина – на 53,1 %, пептидного экстракта гипофиза – на 58,0 % по сравнению с контрольной группой животных. Общая двигательная активность при использовании KSE-02 достоверно увеличилась на 22,4 %, мелатонина – на 38,1 %, пептидного экстракта гипофиза – на 44,5 % по сравнению с контролем. Двигательная активность животных контрольной группы в центре площадки достоверно

снизилась на 51,2 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологической коррекции способствует изменению эмоциональной составляющей поведения животных. При использовании KSE-02 двигательная активность в центре площадки достоверно увеличивается на 95 %, при использовании мелатонина – на 80 %, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 90 % по сравнению с контрольной группой животных. Также достоверно увеличивается двигательная активность крыс на периферии площадки, при использовании мелатонина – на 28,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 34,3 % по сравнению с контролем. В случае сравнения с интактной группой двигательная активность животных на периферии площадки достоверно увеличивается при использовании пептидного экстракта гипофиза также на 34,3 %.

Таким образом, через 3 месяца после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима на постоянную темноту, также как и при постоянном освещении, применение фармакологической коррекции выбранными соединениями способствует увеличению двигательной и исследовательской активности животных, изменению их эмоционального статуса, способствующего выбору стратегии поведения и адаптации животных к изменившимся условиям внешней среды. Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что через 3 месяца исследования фармакологический эффект коррекции KSE-02 в тесте ОП достоверно проявился во взаимодействии с постоянным освещением только на показателе «груминга» ($F_D=0,206$) (Таблица 151).

Таблица 151 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на поведенческие показатели крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,025	0,322	0,061	0,128	$3,9 \times 10^{-5}$	0,968	0,913
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,027	0,276	0,143	0,015*	0,017	0,379	0,81
Груминг, число актов	0,090	0,028*	0,079	0,038*	0,206	0,001*	0,623
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,001	0,808	0,089	0,062	0,035	0,236	0,873
Средняя развиваемая скорость, животным, см/с	0,003	0,702	0,083	0,072	0,034	0,241	0,878

Продолжение Таблицы 151

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Общая двигательная активность, число актов	0,027	0,295	0,092	0,058	0,003	0,746	0,877
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,077	0,038*	0,314	0,0001*	0,003	0,639	0,604
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,017	0,420	0,052	0,162	0,005	0,646	0,925
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте KSE-02 оказал аналогичный эффект взаимодействия с режимом освещения на показателе груминга (ФД =0,198) также (Таблица 152).

Таблица 152 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на поведенческие показатели крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,018	0,351	0,231	0,001	0,001	0,889	0,749
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,010	0,443	0,358	$6,1 \times 10^{-5}$ *	0,005	0,583	0,626
Груминг, число актов	0,068	0,035*	0,219	0,0003*	0,198	0,001*	0,514
Среднее расстояние, пройденное животным, м	$1,3 \times 10^{-5}$	0,980	0,219	0,002*	0,043	0,153	0,736
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,005	0,604	0,208	0,003*	0,037	0,188	0,748
Общая двигательная активность, число актов	0,015	0,382	0,293	0,0003*	0,001	0,898	0,69
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,070	0,048*	0,317	0,0001*	0,006	0,532	0,605
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,008	0,530	0,271	0,0007*	0,001	0,790	0,718
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Через 3 месяца постоянного освещения фармакологический эффект мелатонина достоверно и значительно проявился на бóльшем количестве показателей в тесте ОП по сравнению с 1 месяцем. Достаточно равномерное влияние мелатонина выявлено почти на все исследуемые показатели. Взаимодействие проявилось на показателе груминга ($\Phi\text{Д}=0,240$) (Таблица 153).

Таблица 153 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на поведенческие показатели крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
Горизонтальные перемещения, число актов	0,123	0,020*	0,115	0,024*	0,006	0,579	0,754
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,101	0,023*	0,249	0,001*	0,002	0,736	0,647
Груминг, число актов	0,071	0,047*	0,073	0,044*	0,240	0,001*	0,614
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,042	0,139	0,290	0,0003*	0,001	0,909	0,667
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,098	0,023*	0,266	0,0004*	0,002	0,736	0,632
Общая двигательная активность, число актов	0,130	0,013*	0,172	0,005*	0,001	0,760	0,695
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,173	0,0003*	0,411	$6,5 \times 10^{-7}$ *	0,005	0,486	0,408
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,111	0,028*	0,122	0,021*	0,001	0,816	0,765
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте в течение 3 месяцев мелатонин оказал менее существенный эффект. Двигательная активность в центре площадки достоверно внесла вклад в изменение ориентировочно-двигательной активности животных ($\Phi\text{Д}=0,108$). Взаимодействие также как и при постоянном освещении, проявилось на показателе груминга ($\Phi\text{Д}=0,166$) (Таблица 154).

Таблица 154 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на поведенческие показатели крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,084	0,026*	0,332	$5,49 \times 10^{-5}$ *	0,010	0,432	0,572
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,088	0,011*	0,464	$4,68 \times 10^{-7}$ *	0,002	0,689	0,445
Груминг, число актов	0,079	0,021*	0,261	0,0001*	0,166	0,001*	0,492
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,046	0,076	0,455	$1,6 \times 10^{-6}$ *	0,001	0,851	0,498
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,078	0,020*	0,438	$1,6 \times 10^{-6}$ *	0,001	0,713	0,480
Общая двигательная активность, число актов	0,092	0,014*	0,403	$4,6 \times 10^{-6}$ *	0,003	0,623	0,500
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,108	0,003*	0,479	$8,7 \times 10^{-8}$ *	0,025	0,131	0,386
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,085	0,022*	0,37	$1,7 \times 10^{-5}$ *	0,001	0,760	0,542
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Исследование пептидного экстракта гипофиза Северного оленя выявило весомый вклад данной субстанции на воздействие постоянного освещения в течение 3 месяцев. Фармакологический эффект проявился примерно в равной степени на большую часть показателей теста ОП. Сочетанное действие фактора освещения и фармакологической коррекции проявилось на показателе «груминга» (ФД=0,182) (Таблица 155).

Таблица 155 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на поведенческие показатели крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,128	0,018*	0,106	0,031*	0,004	0,662	0,761

Продолжение Таблицы 155

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,140	0,007*	0,172	0,003*	0,054	0,087	0,633
Груминг, число актов	0,050	0,099	0,127	0,010*	0,182	0,002*	0,639
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,042	0,122	0,348	$5,9 \times 10^{-5}$ *	0,004	0,605	0,605
Средняя развиваемая скорость, животным, см/с	0,132	0,006*	0,301	$9,4 \times 10^{-5}$ *	0,003	0,656	0,562
Общая двигательная активность, число актов	0,172	0,004*	0,162	0,005*	0,0001	0,924	0,664
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,177	0,001*	0,270	0,0001*	0,002	0,719	0,55
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,081	0,066	0,052	0,137	0,052	0,137	0,814
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

В Таблице 156 представлены ФД показателей теста ОП при постоянной темноте через 3 месяца. Существенный вклад пептидный экстракт гипофиза Северного оленя внес в изменение общей двигательной активности на площадке (ФД=0,111). Эффект взаимодействия фармкоррекции и светового режима проявился на показателе груминга (ФД=0,154), также как и при постоянном освещении через 3 месяца.

Таблица 156 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на поведенческие показатели крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Горизонтальные перемещения, число актов	0,097	0,019*	0,305	0,0001*	0,004	0,586	0,592
Вертикальные перемещения (стойки), число актов	0,077	0,012*	0,499	$8,3 \times 10^{-8}$ *	0,022	0,167	0,400

Продолжение Таблицы 156

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
Груминг, число актов	0,039	0,100	0,303	$4,2 \times 10^{-5}$ *	0,154	$0,002$ *	0,502
Среднее расстояние, пройденное животным, м	0,053	0,048*	0,483	$4,2 \times 10^{-7}$ *	$2,8 \times 10^{-5}$	0,963	0,460
Средняя скорость, развиваемая животным, см/с	0,100	0,060	0,47	$2,8 \times 10^{-7}$ *	0,002	0,637	0,426
Общая двигательная активность, число актов	0,111	0,005*	0,420	$1,8 \times 10^{-6}$ *	0,0003	0,862	0,468
Двигательная активность в центре площадки, число актов	0,097	0,014*	0,355	$1,8 \times 10^{-5}$ *	0,022	0,217	0,524
Двигательная активность на периферии площадки, число актов	0,054	0,063	0,378	$1,3 \times 10^{-5}$ *	0,034	0,137	0,533

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Таким образом, в результате фармакологическая коррекция двигательной активности животных KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц проявила эффект почти на всех показателях теста ОП. Через 3 месяца фармакологический эффект данной субстанции проявился в эффекте взаимодействия на показателе груминга как при постоянном освещении, так и при постоянной темноте, что свидетельствует об изменении эмоциональной составляющей в поведении крыс.

Препарат сравнения мелатонин проявил гораздо «скромнее» фармакологический эффект в данном тесте. Так, через 1 месяц светового десинхроноза было выявлено значительное влияние на двигательную активность животных в центре площадки. Эффекта взаимодействия с режимом освещения выявлено не было. Через 3 месяца изменения светового режима мелатонин проявил значительный фармакологический эффект при постоянном освещении и проявил эффект взаимодействия с режимом освещения на показателе груминга. При постоянной темноте фармакологический эффект был минимален, но выявлен эффект взаимодействия также на показателе груминга.

Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг продемонстрировал существенный фармакологический эффект при постоянном освещении и при постоянной ночи через 1 месяц эксперимента. В равной степени все исследуемые показатели теста ОП изменились под воздействием данной субстанции. Эффект взаимодействия наблюдался только при постоянном освещении на показателях груминга и двигательной активности животных по

периферии площадки. Через 3 месяца хронического светового десинхроноза пептидный экстракт гипофиза Северного оленя сохранил воздействие на показатели в тесте ОП при постоянном освещении. При постоянной темноте влияние было выявлено на показателе общей двигательной активности животных. Эффект взаимодействия фармакологической коррекции с режимом освещения был выявлен в обоих режимах освещения на показателе груминга.

Все исследуемые вещества через 3 месяца светового десинхроноза проявили эффект взаимодействия с режимом освещения по показателю груминга, что свидетельствует об изменении эмоционального настроения животных в условиях нарушения поступления светового сигнала.

5.7 Фармакологическая коррекция когнитивных функций крыс в условиях светового десинхроноза

5.7.1. Фармакологическая коррекция когнитивных функций крыс через 1 месяц после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.

Когнитивные функции оценивались в тесте условной реакции пассивного избегания (УРПИ). В Таблице 157 представлены данные теста при фармакологической коррекции УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 при обычном освещении. В результате применения фармакологической коррекции через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия животных при обычном освещении, в тесте УРПИ было выявлено достоверное увеличение латентного периода захода в темный отсек через 2 часа после обучения при использовании мелатонина – на 88,6 %, пептидного экстракта гипофиза на 68,1 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. При этом латентный период захода в темный отсек через 2 часа в контрольной группе достоверно снижается на 51,2 % при сравнении с интактной группой. Время нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения в контрольной группе достоверно снижается на 49,5% по сравнению с интактной группой. Применение фармакологической коррекции мелатонином достоверно увеличило это время на 90,2 %, пептидного экстракта гипофиза - на 66,6 % по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения достоверно снижается при использовании мелатонина на 75,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 55,6 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. В тоже время данный показатель в контрольной группе достоверно выше в 5,5 раз по сравнению с интактной группой.

Таблица 157 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 при обычном освещении при фармакологической коррекции

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Латентный период первого захода, с	22,7±4,4	21,3±4,6	20,2±4,3	33,3±7,4	26,7±5,7
Латентный период захода через 2 часа, с	108,3±11,7	52,8±17,1#	73,2±19,1	99,6±13,6*	88,8±15,9*
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	108,3±11,7	54,6±16,6#	86,9±15,6	103,9±10,8*	91,0±14,8*
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	11,7±11,7	65,4±16,6#	33,1±15,6	16,1±10,8*	29,0±14,8*
% обученных животных через 2 часа после обучения	90%	30%	60%	80%	80%
Латентный период захода через 24 часа, с	102,2±11,8	37,3±15,8#	75,0±18,5	79,2±16,7*	93,7±13,9*
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	108,2±11,8	40,2±15,5#	76,5±18,0	84,2±14,7	94,7±13,4*
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	11,8±11,8	79,8±15,5#	43,5±18,0	35,8±14,7*	25,3±13,4*
% обученных животных через 24 часа после обучения	90%	20%	60%	60%	70%
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Через 24 часа после обучения латентный период захода в темный отсек достоверно увеличивается в группах с фармакологической коррекцией. Применение мелатонина увеличило это время достоверно в 2,1 раза, пептидного экстракта гипофиза в 2,5 раза по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. В тоже время значение данного показателя в группе контрольных животных привело к достоверному снижению этого времени на 65,5 % по сравнению с интактной группой. Время нахождения в светлой камере через 24 часа после обучения в контрольной группе достоверно снизилось на 62,8 % по сравнению с интактной группой. Данный показатель достоверно увеличился при использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза в 2,4 раза по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения достоверно снизилось на 55,1 % при использовании мелатонина, снизилось на 68,2 % - при использовании пептидного экстракта гипофиза по сравнению с контрольной группой. В контрольной группе

данный показатель достоверно увеличился в 6,7 раза по сравнению с интактной группой.

Через 2 час после обучения наблюдается снижение процента обученных животных в группе контроля, без фармакологической коррекции. В группах с фармакологической коррекцией наилучший эффект по количеству обученных животных оказал мелатонин и пептидный экстракт гипофиза Северного оленя (по 80 % в обеих группах). Через 24 часа процент обученных животных в группе без фармакологической коррекции также ниже, чем в группах с использованием соединений фармакологической коррекции.

В Таблице 158 представлены данные теста фармакологической коррекции УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного давления» при постоянном освещении. Результатом применения фармакологической коррекции через 1 месяц после острого отравления тиопенталом натрия животных, находящихся при постоянном освещении, в тесте УРПИ было выявлено достоверное увеличение латентного периода первого захода в темный отсек в контрольной группе в 2,5 раза по сравнению с данным показателем из интактной группы. Латентный период через 2 часа после обучения достоверно увеличился при использовании KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза на 43,0 % сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Время нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения в группах с фармакологической коррекцией KSE-02 и клеточным экстрактом гипофиза достоверно повышается на 41,3% по сравнению с контрольной группой. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения достоверно снижается при использовании KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Через 24 часа после обучения латентный период захода в темный отсек достоверно увеличивается в группах с фармакологической коррекцией. Применение KSE-02 увеличило это время на 97,6 %, мелатонина – на 58,9 %, пептидного экстракта гипофиза – на 81,2 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. В тоже время значение данного показателя в группе контрольных животных привело к достоверному снижению этого времени на 40,0 % по сравнению с интактной группой. Время нахождения в светлой камере через 24 часа после обучения в контрольной группе достоверно снизилось на 30,8 % по сравнению с интактной группой. Данный показатель достоверно увеличился при использовании в качестве фармакологической коррекции KSE-02 - на 69,9 %, мелатонина - на 41,3 %, пептидного экстракта гипофиза – на 55,8 % по сравнению с контролем.

Таблица 158 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 при фармакологической коррекции (постоянное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатони н	Гипофиз
Латентный период первого захода, с	22,9±11,3	56,6±17,4#	34,9±11,0	42,3±12,8	18,0±4,2
Латентный период захода через 2 часа, с	98,9±14,2	83,9±15,3	120,0±0,1*	99,4±13,9	120,0±0,0*
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	99,3±13,9	84,9±14,9	120,0±0,1*	99,8±13,7	120,0±0,0*
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	20,7±13,9	35,1±14,9	0,0±0,0*	20,2±13,7	0,0±0,0*
% обученных животных через 2 часа после обучения	80%	40%	100%	80%	100%
Латентный период захода через 24 часа, с	101,3±12,6	60,7±14,2#	120,0±0,0*	96,5±10,0*	110,5±9,5*
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	102,1±12,1	70,6±11,6#	120,0±0,0*	99,8±9,0*	110,5±9,5*
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	17,9±12,1	49,4±11,6	0,0±0,0*	20,2±9,0*	9,5±9,5*
% обученных животных через 24 часа после обучения	80%	30%	100%	60%	90%
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения достоверно снизилось при использовании KSE-02, мелатонина на 59,1 %, при использовании пептидного экстракта гипофиза снизилось на 80,7 % по сравнению с контрольной группой.

Через 2 час после обучения наблюдается снижение процента обученных животных в группе контроля, без фармакологической коррекции. В группах с фармакологической коррекцией наилучший эффект по количеству обученных животных оказал KSE-02 и пептидный экстракт гипофиза (по 100 % в обеих группах). Через 24 часа процент обученных животных в группе без фармакологической коррекции также ниже, чем в группах с использованием соединений фармакологической коррекции. Наибольший эффект оказали KSE-02 и пептидный экстракт гипофиза (100% и 90 % соответственно).

В Таблице 159 представлены данные теста при фармакологической коррекции УРПИ при постоянной темноте у крыс-самцов через 1 месяц после «усиления окислительного

давления». Результатом применения фармакологической коррекции через 1 месяц после окислительного давления (отравление тиопенталом натрия) на животных, находящихся при постоянной темноте, в тесте УРПИ было выявлено достоверное снижение латентного периода первого захода в темный отсек. В группе с фармакологической коррекцией мелатонином данный период снизился на 66,8 %, в группе с фармакологической коррекцией пептидным экстрактом гипофиза - на 83,7 по сравнению с данным показателем из контрольной группы. Латентный период через 2 часа после обучения увеличился при использовании всех вариантов фармакологической коррекции сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных, но недостоверно. Время нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения в группах с фармакологической коррекцией по сравнению с контрольной группой и выходит на уровень интактной группы. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения снижается при использовании KSE-02, мелатонина и клеточного экстракта гипофиза по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Через 24 часа после обучения латентный период захода в темный отсек увеличивается в группах с фармакологической коррекцией: KSE-02 и пептидным экстрактом гипофиза по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Данные изменения не имеют достоверный характер. В тоже время значение данного показателя в группе контрольных животных примерно находится на уровне интактной группы. Время нахождения в светлой камере через 24 часа после обучения в группах с фармакологической коррекцией увеличивается KSE-02 и пептидным экстрактом гипофиза по сравнению с контрольной группой. Данные изменения недостоверны. Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения снизилось при использовании KSE-02 на 41,9 %, и при использовании пептидного экстракта гипофиза снизилось на 49,0 % по сравнению с контрольной группой, но недостоверно. Через 2 час после обучения наблюдается снижение процента обученных животных в группе контроля, без фармакологической коррекции. В группах с фармакологической коррекцией наилучший эффект по количеству обученных животных оказал KSE-02 и клеточный экстракт гипофиза (100 % и 80 % соответственно). Через 24 часа процент обученных животных в группе без фармакологической коррекции также ниже, чем в группах с использованием соединений фармакологической коррекции. Наибольший эффект оказали мелатонин и пептидный экстракт гипофиза (по 80 % каждое из веществ).

Таблица 159 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 при фармакологической коррекции (постоянная темнота)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатони н	Гипофиз
Латентный период первого захода, с	42,3±14,3	46,2±13,0	25,3±6,5	15,3±2,6*	7,5±1,6*
Латентный период захода через 2 часа, с	97,5±11,6	83,4±15,3	120,0±0,0	99,6±13,6	100,0±13,4
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	99,0±10,8	86,2±14,4	120,0±0,0	100,6±13,0	101,0±12,9
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	21,0±10,8	33,8±14,4	0,0±0,0	19,4±13,0	19,0±12,9
% обученных животных через 2 часа после обучения	70%	60%	100%	80%	80%
Латентный период захода через 24 часа, с	78,2±17,2	71,0±16,5	93,9±13,6	71,2±16,6	90,7±15,2
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	67,6±17,7	77,6±14,3	95,4±13,0	75,5±15,7	98,4±14,4
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	41,3±17,7	42,4±14,3	24,6±13,0	44,5±15,7	21,6±14,4
% обученных животных через 24 часа после обучения	60%	50%	70%	80%	80%

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)
– достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

В предыдущем этапе данной работы в тесте УРПИ было выяснено, что после «усиления окислительного давления» и изменения светового режима в течение 1 месяца, повысилась скорость угасания рефлекса, нарушились процессы консолидации памяти. При сочетанном воздействии этих двух факторов достоверно изменился процесс обучения и воспроизведения информации, нарастает тревожность и страх. Результатом фармакологической коррекции стало увеличение количества обученных животных через 24 часа после обучения в группах отравленных животных с измененным световым режимом, что свидетельствует об улучшении процессов консолидации памяти и воспроизведения информации. Наилучший эффект оказал пептидный экстракт гипофиза Северного оленя.

Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что соединение KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при постоянном освещении через 1 месяц оказало равномерное воздействие почти на все показатели теста УРПИ. Это показатели, касающиеся как образования условного рефлекса, так

и воспроизведения ранее полученной информации. Эффект взаимодействия не выявлен (Таблица 160).

Таблица 160 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на когнитивные функции крыс через 1 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,017	0,393	0,012	0,032*	0,013	0,455	0,851
ЛП2	0,122	0,021*	0,095	0,039*	0,022	0,307	0,758
СК2	0,184	0,004*	0,071	0,069	0,007	0,554	0,736
ТК2	0,184	0,004*	0,071	0,069	0,007	0,554	0,736
ЛП24	0,218	0,001*	0,108	0,020*	0,010	0,447	0,661
СК24	0,106	0,032*	0,068	0,084	0,049	0,014*	0,775
ТК24	0,192	0,002*	0,143	0,008*	0,004	0,623	0,659
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте фармакологический эффект данного вещества менее выражен. Всего три показателя проявило фармакологический эффект KSE-02, а именно, СК2 (ФД=0,125), ТК2 (ФД=0,125), ТК24 (ФД=0,153). Эффект взаимодействия с режимом освещения также не обнаружен (Таблица 161).

Таблица 161 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на когнитивные функции крыс через 1 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,044	0,172	0,083	0,065	0,036	0,218	0,835
ЛП2	0,078	0,064	0,143	0,013*	0,006	0,590	0,771
СК2	0,125	0,019*	0,120	0,021*	$6,5 \times 10^{-5}$	0,955	0,753
ТК2	0,125	0,019*	0,120	0,021*	$6,5 \times 10^{-5}$	0,955	0,754
ЛП24	0,082	0,069	0,062	0,112	0,004	0,650	0,849

Продолжение Таблицы 161

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
СК24	0,020	0,381	0,024	0,344	0,002	0,782	0,952
ТК24	0,153	0,007*	0,161	0,006*	0,0009	0,827	0,684
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Препарат сравнения мелатонин в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения через 1 месяц эксперимента оказал фармакологический эффект на показатели как образования условного рефлекса, так и на показатели воспроизведения информации. Эффект взаимодействия не выявлен (Таблица 162).

Таблица 162 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на когнитивные функции крыс через 1 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,001	0,884	0,078	0,085	0,022	0,348	0,898
ЛП2	0,155	0,013*	0,006	0,594	0,006	0,585	0,831
СК2	0,172	0,008*	0,005	0,644	0,012	0,452	0,809
ТК2	0,173	0,008*	0,004	0,644	0,012	0,452	0,809
ЛП24	0,161	0,010*	0,044	0,165	0,001	0,833	0,793
СК24	0,054	0,156	0,005	0,651	0,001	0,836	0,938
ТК24	0,168	0,007*	0,066	0,084	0,006	0,571	0,758
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

В отличие от постоянного освещения при постоянной темноте через 1 месяц мелатонин оказал эффект только на процессы образования условного рефлекса (показатели, зарегистрированные через 2 часа после обучения). Но был выявлен эффект взаимодействия с режимом освещения на показателе ЛП0 (ФД=0,162) (Таблица 163).

Таблица 163 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на когнитивные функции крыс через 1 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,031	0,241	0,004	0,666	0,162	0,010*	0,801
ЛП2	0,103	0,042*	0,024	0,314	0,024	0,314	0,847
СК2	0,119	0,027*	0,023	0,314	0,035	0,216	0,820
ТК2	0,172	0,008*	0,005	0,644	0,012	0,452	0,809
ЛП24	0,041	0,207	0,015	0,438	0,04	0,211	0,902
СК24	0,006	0,622	$8,74 \times 10^{-5}$	0,955	0,011	0,528	0,982
ТК24	0,047	0,172	0,022	0,346	0,057	0,134	0,873
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя оказал значительный фармакологический эффект на когнитивные способности крыс через 1 месяц светового десинхроноза (постоянное освещение). Почти все оцениваемые показатели проявили влияние данной субстанции. Также был обнаружен эффект взаимодействия с режимом освещения по показателю ЛП0 (ФД=0,106) (Таблица 164).

Таблица 164 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на когнитивные функции крыс через 1 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,055	0,125	0,032	0,239	0,106	0,035*	0,806
ЛП2	0,201	0,003*	0,059	0,094	0,006	0,590	0,732
СК2	0,207	0,002*	0,061	0,089	0,004	0,654	0,726
ТК2	0,207	0,002*	0,061	0,089	0,004	0,654	0,726
ЛП24	0,287	0,0003*	0,041	0,146	0,001	0,808	0,670
СК24	0,161	0,011*	0,013	0,452	0,005	0,626	0,819

Продолжение Таблицы 164

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ТК24	0,259	0,001*	0,062	0,076	0,006	0,568	0,672
* – Достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте фармакологический эффект, оказанный данной субстанцией, менее выражен, но также затронул процессы образования условного рефлекса и процессы, связанные с воспроизводимостью информации. Также был выявлен эффект взаимодействия коррекции и режима освещения по показателю ЛПО (ФД=0,173) (Таблица 165).

Таблица 165 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на когнитивные функции крыс через 1 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛПО	0,099	0,032*	0,0029	0,706	0,173	0,005*	0,724
ЛП2	0,070	0,098	0,044	0,185	0,009	0,535	0,876
СК2	0,072	0,091	0,047	0,167	0,012	0,468	0,886
ТК2	0,119	0,031*	0,02	0,361	0,001	0,810	0,858
ЛП24	0,137	0,018*	0,022	0,324	0,032	0,239	0,807
СК24	0,071	0,102	0,006	0,627	0,001	0,817	0,920
ТК24	0,147	0,013*	0,043	0,162	0,029	0,250	0,778
* – Достоверность при $p \leq 0,05$							

5.7.2. Фармакологическая коррекция когнитивных функций крыс через 3 месяца после «усиления окислительного давления» в условиях светового десинхроноза.

В Таблице 166 представлены данные теста при фармакологической коррекции УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в дозе LD50 при обычном освещении.

Таблица 166 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (обычное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Латентный период первого захода, с	18,2±9,8	26,5±10,9	52,7±13,9	40,3±11,7	35,6±11,0
Латентный период захода через 2 часа, с	74,2±18,7	61,7±17,3	108,2±11,8*	109,2±10,8*	100,8±12,9*
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	74,2±18,7	72,1±14,1	109,7±10,3*	110,0±10,0*	101,9±12,3*
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	45,8±18,7	47,9±14,1	10,3±10,3*	10,0±10,0*	18,1±12,3
% обученных животных через 2 часа после обучения	60%	40%	90%	90%	80%
Латентный период захода через 24 часа, с	64,4±18,6	60,2±17,9	119,8±0,2*	89,7±15,5	112,5±7,5
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	73,3±18,6	68,4±15,6	119,8±0,2*	94,7±13,0	115,0±5,0*
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	46,7±18,6	51,6±15,6	0,2±0,2*	25,3±13,0*	5,0±5,0*
% обученных животных через 24 часа после обучения	50%	40%	90%	70%	90%

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

В результате применения фармакологической коррекции через 3 месяца после «усиления окислительного давления» животные, находящиеся в обычном освещении, в тесте УРПИ

проявили достоверное увеличение латентного периода захода в темный отсек через 2 часа после обучения. При использовании KSE-02 этот период увеличился на 75,3 %, мелатонина – на 76,9 %, пептидного экстракта гипофиза на 63,3 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. При этом латентный период захода в темный отсек через 2 часа в контрольной группе снижается на 16,8 % при сравнении с интактной группой. Применение фармакологической коррекции KSE-02 достоверно увеличило время нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения на 52,1 %, мелатонином - на 52,6 %, пептидного экстракта гипофиза - на 41,3 % по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения достоверно снижается при использовании KSE-02 на 78,4 %, мелатонина на 79,1 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Через 24 часа после обучения латентный период захода в темный отсек увеличивается в группах с фармакологической коррекцией. Достоверные изменения наблюдаются при применении KSE-02, увеличение в 2,0 раза по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Время нахождения в светлой камере через 24 часа после обучения достоверно увеличилось при использовании в качестве фармакологической коррекции KSE-02 на 75,1 %, пептидного экстракта гипофиза – на 68,1 % по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения достоверно снизилось при использовании KSE-02, мелатонина – на 50,9 %, при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 90,3 % по сравнению с контрольной группой.

Через 2 часа после обучения наблюдается снижение процента обученных животных в группе контроля, без фармакологической коррекции. В группах с фармакологической коррекцией наилучший эффект по количеству обученных животных оказал KSE-02 и мелатонин (по 90 % в обеих группах). Через 24 часа процент обученных животных в группе без фармакологической коррекции также ниже, чем в группах с использованием соединений фармакологической коррекции. Но применение KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза способствовало наибольшему количеству обученных животных через 24 часа после обучения.

В Таблице 167 представлены данные теста при фармакологической коррекции УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца постоянного освещения после «усиления окислительного давления».

В результате применения фармакологической коррекции через 3 месяца после острого отравления тиопенталом натрия животных, находящихся при постоянном освещении, в тесте УРПИ было выявлено достоверное увеличение латентного периода захода в темный отсек через 2 часа после обучения. При использовании мелатонина латентный период увеличился на 36,8 %, пептидного экстракта гипофиза – на 14,0 % по сравнению со значениями этого

показателя в группе контрольных животных.

Таблица 167 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (постоянное освещение)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Латентный период первого захода, с	18,7±3,6	28,2±11,0	38,9±13,9	54,5±14,9	35,0±14,5
Латентный период захода через 2 часа, с	80,8±16,3	74,1±15,9	87,7±16,6	120,0±0,0*	100,3±13,1*
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	85,2±14,8	80,8±14,2	87,7±16,6	120,0±0,0*	101,6±12,3*
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	34,8±14,8	39,2±14,2	32,3±16,6	0,0±0,0*	17,4±11,8*
% обученных животных через 2 часа после обучения	60%	50%	70%	100%	80%
Латентный период захода через 24 часа, с	79,0±17,0	36,6±14,5#	86,0±17,3*	78,9±16,9*	90,1±15,4*
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	81,7±16,2	39,5±14,5#	86,0±17,3*	82,1±15,8*	90,4±15,2*
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	38,3±16,2	80,5±14,5#	34,0±17,3*	38,3±15,7*	29,6±15,2*
% обученных животных через 24 часа после обучения	60%	20%	70%	60%	70%
* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)					

Применение фармакологической коррекции мелатонином достоверно увеличило время нахождения в светлой камере через 2 часа после обучения на 48,5 %, пептидного экстракта гипофиза – на 25,7 % по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения достоверно снижается при использовании мелатонина, при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 55,6 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Через 24 часа после обучения латентный период захода в темный отсек увеличивается в группах с фармакологической коррекцией. Достоверные изменения наблюдаются при применении KSE-02, увеличение в 2,3 раза, мелатонина – в 2,2 раза, при использовании пептидного экстракта гипофиза – в 2,5 раза по сравнению со

значениями этого показателя в группе контрольных животных. При этом в контрольной группе время латентного периода захода в темный отсек через 24 часа после обучения достоверно снижается на 53,6 % по сравнению с интактной группой. Время нахождения в светлой камере через 24 часа после обучения достоверно увеличилось при использовании в качестве фармакологической коррекции KSE-02 в 2,2 раза, мелатонина – в 2 раза, пептидного экстракта гипофиза – в 2,3 раза по сравнению с контролем. При этом в контрольной группе время нахождения в светлой камере после 24 часов после обучения достоверно снизилось на 51,6 % по сравнению с интактной группой.

Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения достоверно снизилось при использовании KSE-02 на 57,7 %, мелатонина – на 52,4 %, при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 60,3 % по сравнению с контрольной группой. При этом в контрольной группе время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения достоверно увеличилось в 2,1 раза по сравнению с интактной группой. Через 2 часа после обучения наблюдается снижение процента обученных животных в группе контроля, без фармакологической коррекции. В группах с фармакологической коррекцией наилучший эффект по количеству обученных животных оказал мелатонин и пептидный экстракт гипофиза (100 % и 80 % соответственно). Через 24 часа процент обученных животных в группе без фармакологической коррекции снизился на 66,6 % по сравнению с интактной группой. В группах с использованием соединений фармакологической коррекции количество обученных животных находится на уровне показателей интактной группы. Наилучший эффект оказало применение KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза.

В Таблице 168 представлены данные теста при фармакологической коррекции УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца при постоянной темноте после «усиления окислительного давления».

В результате фармакологической коррекции через 3 месяца постоянной темноты и после окислительного давления у животных, в тесте УРПИ было выявлено снижение латентного периода первого захода в темный отсек во всех вариантах коррекции, но данные изменения недостоверны. Через 2 часа после обучения время латентного периода захода в темный отсек увеличилось в среднем на 15,0-16,0 % при использовании всех трех вариантов фармакологической коррекции по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Аналогичное увеличение времени нахождения в светлой камере наблюдаются при применении фармакологической коррекции через 2 часа после обучения по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 2 часа после обучения недостоверно снижается при использовании фармакологической коррекции. Через 24 часа

после обучения латентный период захода в темный отсек увеличивается в группах с фармакологической коррекцией. Достоверные изменения наблюдаются при применении мелатонина – на 81,3 % по сравнению со значениями этого показателя в группе контрольных животных. Время нахождения в светлой камере через 24 часа после обучения достоверно увеличилось при использовании в качестве фармакологической мелатонина на 69,0 % по сравнению с контролем. Время нахождения в темной камере через 24 часа после обучения достоверно снизилось при использовании KSE-02 на 47,6 %, мелатонина – на 67,6 % по сравнению с контрольной группой.

Таблица 168 – Показатели теста УРПИ у крыс-самцов через 3 месяца после «усиления окислительного давления» при фармакологической коррекции (постоянная темнота)

Исследуемые показатели (M±m)	Экспериментальные группы				
	Интактные	Без коррекции (контроль)	KSE-02	Мелатонин	Гипофиз
Латентный период первого захода, с	46,4±14,4	62,0±10,1	50,2±13,5	44,6±16,6	36,2±14,3*
Латентный период захода через 2 часа, с	78,7±14,5	85,7±14,1	100,5±13,4	98,5±14,4	89,0±15,8
Время нахождения в светлой камере через 2 часа, с	82,0±13,8	89,4±12,6	100,5±13,4	99,7±13,7	90,3±15,3
Время нахождения в тёмной камере через 2 часа, с	38,0±13,8	30,6±12,6	19,5±13,4	20,3±13,7	29,7±15,3
% обученных животных через 2 часа после обучения	50%	50%	80%	80%	70%
Латентный период захода через 24 часа, с	61,3±16,8	54,6±15,2	86,4±17,1	99,0±14,1*	77,3±17,0
Время нахождения в светлой камере через 24 часа, с	64,2±16,0	59,4±14,5	88,3±16,2	100,4±13,4*	78,6±16,7
Время нахождения в тёмной камере через 24 часа, с	55,8±16,0	60,6±14,5	31,7±16,2*	19,6±13,4*	41,4±16,7
% обученных животных через 24 часа после обучения	40%	30%	70%	80%	60%

* – достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни) # – достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна-Уитни)

Через 2 час после обучения не изменяется количество обученных животных в группе

контроля, без фармакологической коррекции по сравнению с интактной группой. В группах с фармакологической коррекцией наилучший эффект по количеству обученных животных оказал мелатонин и KSE-02 (80 % в обеих группах). Через 24 часа процент обученных животных в группе без фармакологической коррекции снизился на 25 % по сравнению с интактной группой. В группах с использованием соединений фармакологической коррекции процент обученных животных выше показателя интактной группы, в среднем, на 50 % по сравнению с интактной группой. Наилучший эффект оказало использование мелатонина.

Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что соединение KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при постоянном освещении через 3 месяца оказало фармакологическое воздействие на показатели теста УРПИ, касающиеся воспроизведения ранее полученной информации (через 24 часа после обучения). Эффект взаимодействия фармкоррекции и режима освещения не выявлен (Таблица 169).

Таблица 169 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на когнитивные функции крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ЛП0	0,056	0,148	0,006	0,631	0,009	0,539	0,928
ЛП2	0,091	0,060	0,001	0,795	0,027	0,296	0,879
СК2	0,063	0,119	0,005	0,636	0,030	0,279	0,900
ТК2	0,063	0,119	0,005	0,636	0,030	0,279	0,900
ЛП24	0,263	0,0005*	0,072	0,054	0,002	0,725	0,661
СК24	0,236	0,001*	0,096	0,028*	0,0005	0,859	0,666
ТК24	0,236	0,001*	0,096	0,028*	0,0005	0,859	0,666

* – достоверность при $p \leq 0,05$

При постоянной темноте фармакологический эффект данного вещества также выражен в отношении показателей, описывающих процессы воспроизведения информации, а именно, ЛП24 (ФД=0,203), СК24 (ФД=0,187), ТК24 (ФД=0,187). Эффект взаимодействия с режимом освещения также не обнаружен (Таблица 170).

Таблица 170 – Оценка воздействия KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на когнитивные функции крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ЛП0	0,008	0,560	0,044	0,186	0,059	0,129	0,887
ЛП2	0,109	0,038*	0,007	0,571	0,029	0,273	0,853
СК2	0,090	0,062	0,003	0,751	0,026	0,302	0,880
ТК2	0,090	0,062	0,003	0,751	0,026	0,302	0,880
ЛП24	0,203	0,003*	0,037	0,188	0,018	0,345	0,741
СК24	0,187	0,004*	0,047	0,138	0,014	0,405	0,749
ТК24	0,187	0,004*	0,047	0,138	0,014	0,405	0,749
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

Препарат сравнения мелатонин в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения через 3 месяца эксперимента оказал такой же фармакологический эффект на показатели теста УРПИ. Эффект касается процессов образования условного рефлекса, так и показателей воспроизведения информации. Эффект взаимодействия не выявлен (Таблица 171).

Таблица 171 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на когнитивные функции крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай ФД
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	
ЛП0	0,068	0,109	0,010	0,519	0,006	0,612	0,914
ЛП2	0,262	0,0009*	0,016	0,375	$7,7 \times 10^{-5}$	0,950	0,721
СК2	0,244	0,001*	0,014	0,408	$6,9 \times 10^{-5}$	0,953	0,741
ТК2	0,244	0,001*	0,014	0,400	$6,9 \times 10^{-5}$	0,950	0,741
ЛП24	0,115	0,033*	0,026	0,297	0,003	0,696	0,854
СК24	0,124	0,025*	0,045	0,168	0,007	0,584	0,823
ТК24	0,123	0,025*	0,046	0,163	0,006	0,592	0,823
* – достоверность при $p \leq 0,05$							

При постоянной темноте через 3 месяца мелатонин оказал эффект также на процессы образования следа памяти, воспроизведения информации (показатели, зарегистрированные через 24 часа после обучения). Эффект взаимодействия с режимом освещения не выявлен (Таблица 172).

Таблица 172 – Оценка воздействия мелатонина в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на когнитивные функции крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,0005	0,887	0,062	0,122	0,038	0,223	0,898
ЛП2	0,105	0,042*	0,005	0,645	0,034	0,233	0,854
СК2	0,088	0,065	0,001	0,784	0,028	0,284	0,881
ТК2	0,089	0,065	0,002	0,785	0,028	0,283	0,880
ЛП24	0,131	0,024*	0,0003	0,907	0,005	0,639	0,862
СК24	0,134	0,022*	0,0003	0,907	0,006	0,606	0,858
ТК24	0,134	0,022*	0,0003	0,907	0,006	0,606	0,858

* – достоверность при $p \leq 0,05$

Пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя также оказал фармакологический эффект на когнитивные способности крыс через 3 месяца светового десинхроноза (постоянное освещение). Все показатели, оцениваемые через 24 часа после обучения, проявили влияние данной субстанции. Эффект взаимодействия с режимом освещения не выявлен (Таблица 173).

Таблица 173 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянного освещения на когнитивные функции крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,019	0,404	0,001	0,832	0,0001	0,946	0,979
ЛП2	0,116	0,035*	0,003	0,692	0,004	0,668	0,875
СК2	0,091	0,064	0,002	0,753	0,002	0,736	0,903

Продолжение Таблицы 173

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ТК2	0,096	0,057	0,003	0,722	0,002	0,762	0,898
ЛП24	0,260	0,0007*	0,049	0,117	$3,36 \times 10^{-5}$	0,966	0,689
СК24	0,251	0,0007*	0,075	0,051	0,0005	0,872	0,672
ТК24	0,251	0,0007*	0,076	0,051	0,0004	0,872	0,672
* – достоверность при $p < 0,05$							

При постоянной темноте фармакологический эффект, оказанный пептидной субстанцией, выражен, и также затронул процессы, связанные с воспроизводимостью информации. Эффект взаимодействия коррекции и режима освещения не выявлен (Таблица 174).

Таблица 174 – Оценка воздействия пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в условиях постоянной темноты на когнитивные функции крыс через 3 месяца эксперимента

Показатель	Фактор А коррекция		Фактор В освещение		А+В		Случай
	ФД	Р	ФД	Р	ФД	Р	ФД
ЛП0	0,0003	0,906	0,114	0,035*	0,019	0,367	0,864
ЛП2	0,049	0,169	0,004	0,688	0,035	0,244	0,910
СК2	0,033	0,266	0,001	0,835	0,029	0,295	0,936
ТК2	0,033	0,266	0,001	0,835	0,029	0,295	0,936
ЛП24	0,138	0,017*	0,041	0,181	0,021	0,329	0,798
СК24	0,125	0,022*	0,059	0,107	0,021	0,325	0,792
ТК24	0,125	0,022*	0,059	0,107	0,021	0,325	0,792
* – достоверность при $p < 0,05$							

Таким образом, длительный световой десинхронизм в условиях «усиления окислительного давления» привел к снижению двигательной активности животных, к астении, к обездвиженности типа каталепсии, нарушению психоэмоциональной активности

экспериментальных животных, развитию депрессии. Вследствие чего ухудшался процесс обучения, извлечения и воспроизведения необходимой информации. Результатом фармакологической коррекции данных нарушений поведения и когнитивных ресурсов животных явилось улучшение психоэмоционального статуса, увеличение количества обученных животных из групп. Вещество KSE-02 в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении через 1 месяц постоянного освещения оказало влияние как на процесс формирования условного рефлекса, так и на воспроизведение информации. При постоянной темноте данный фармакологический эффект был выражен слабее. Через 3 месяца хронического светового десинхроноза фармакологический эффект исследуемого вещества проявился на показателях консолидации и воспроизведения информации.

Препарат сравнения мелатонин в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении через 1 месяц светового десинхроноза оказал эффект на процессы образования условного рефлекса, так и на образование памятного следа при постоянном освещении. При постоянной темноте мелатонин оказал влияние только на процесс фиксации полученной информации. Был выявлен эффект взаимодействия с режимом освещения по показателю ЛПО. Через 3 месяца изменения светового режима эффект мелатонина проявился гораздо объемнее и связан как с процессами фиксации полученной информации, так и с ее воспроизведением.

Пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении через 1 месяц хронического светового десинхроноза оказал значительный фармакологический эффект на когнитивные способности крыс при постоянном освещении. При постоянной темноте оказанный фармакологический эффект связан с процессами воспроизведения информации. Был выявлен эффект взаимодействия вещества и режима освещения по показателю ЛПО. Через 3 месяца хронического светового десинхроноза пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя оказал воздействие на процессы воспроизведения информации.

Анализ полученных данных свидетельствует, что постоянное освещение в течение 1 месяца оказывает влияние на момент фиксации получаемой информации и образования условного рефлекса. Световой десинхроноз (постоянное освещение и постоянная темнота) в течение 3 месяцев оказывает воздействие на процессы консолидации памяти и образования памятного следа. Таким образом, исследуемые соединения оказывают хронобиотический фармакологический эффект, но неодинаковый при разных режимах освещения. Возможно, их комбинированное применение поможет достигнуть целевых показателей при адаптации к изменению поступления светового сигнала.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное экспериментальное исследование выявило, что в случае отличий от естественного цикла освещения для внутренней синхронизации осцилляторов разного уровня требуется стабилизация антиоксидантной системы в клетках, как первичного звена клеточных биологических часов и обеспечение энергопродуцирующих процессов достаточным количеством кислорода. Для управления собственным временем в отсутствие внешнего пейсмекера, биосистеме необходима энергия и возможность управлять энергоемкими процессами. Так как конкретные элементы биологических часов в клетке включают в себя редокс-сенсоры, сенсоры изменения клеточного метаболизма (PAS домены в гипоксия-индуцибельном факторе, белки часовых генов, потенциал-зависимых калиевых каналов, НАДН⁺ - зависимые дегидрогеназы и т.д.), то именно чувствительность этих сенсоров изменилась. Условия «окислительного давления» наиболее четко проявили точки взаимодействия между внешним световым циклом и эндогенной циркадианной системой. Через 1 месяц светового десинхроноза в эритроцитах эффект взаимодействия выявлен на показателях перекисного окисления мембран ДК и МДА, фермент глутатион-S-трансфераза, концентрация ВГ. Через 3 месяца светового десинхроноза возрастает роль карбонильных соединений (МДА и ДК) в развитии электрофильной сигнализации в клетке и активность фермента ГТ, утилизирующего эти электрофилы. В тканях мозга через 1 месяц изменения освещения – это ВГ, Гл-6-ФДГ, СОД, ГП, а через 3 месяца, также как и в эритроцитах, МДА и ГТ. Таким образом, вследствие хронического светового десинхроноза развивается гипоксия, что способствует образованию избытка электронов в составе НАДН⁺ и ФАДН₂ восстановленных и приводит к увеличению АФК в митохондриях. Увеличение количества электрофильных соединений (альдегидов и кетонов, ДК и МДА), которые являются стабильными метаболитами, возможно влияние на посттрансляционную гистоновую модификацию с целью изменения экспрессии генетической информации.

Использованные в исследовании вещества для фармакологического воздействия оказали эффект по выбранным «целям». Согласно факторам детерминации показателей ВГ и ГТ выраженный антиоксидантный и хронобиотический эффект оказал KSE-02 100 мкг/кг при интраназальном введении в эритроцитах через 1 месяц светового десинхроноза. Препарат сравнения мелатонин в той же дозе и введении оказал антиоксидантный эффект в обоих режимах освещения, хронобиотический эффект мелатонин оказал только при постоянном освещении. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя проявил антиоксидантный эффект в режиме постоянное освещение и постоянная темнота, но хронобиотический эффект проявился в

режиме постоянное освещение. Через 3 месяца светового десинхроноза все три выбранные субстанции в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении в эритроцитах способствовали антиоксидантному эффекту. Выраженный хронобиотический эффект оказал KSE-02, так как эффект взаимодействия показателей АОС проявился со всеми режимами освещения. В тканях головного мозга через 1 месяц антиоксидантный и хронобиотический эффекты оказали также все три соединения, а через 3 месяца, хронобиотический эффект оказали мелатонин и пептидный экстракт гипофиза Северного оленя. Отсутствие освещения оказывает очень сильное воздействие на эндогенную циркадианную систему, нарушает процессы, связанные с фотоиндукцией. Синактонный механизм действия пептидов вызывают долгосрочные отставленные во времени изменения функциональной активности рецепторных систем.

Изменение реакции первичного-окислительного осциллятора на нарушение поступления светового сигнала проявилось и на уровне энергетического обмена. Наиболее значимые изменения выявлены в условиях постоянного освещения, так как в это время наблюдается максимальная двигательная активность экспериментальных животных и требуется достаточно кислорода для ее обеспечения. Двухфакторный анализ выявил точки взаимодействия, связанные с концентрацией сенсора кислорода в клетке, белка $Hif1\alpha$ и активности креатинкиназы, фермента, обеспечивающего первый дыхательный комплекс электротранспортной цепи митохондрий молекулой АДФ для синтеза АТФ через 1 и 3 месяца. Применение фармакологической коррекции всеми тремя субстанциями через 1 месяц эксперимента способствовало антигипоксическому действию соединений, но наилучший эффект оказал KSE-02 и препарат сравнения – мелатонин, как в условиях постоянного освещения, так и в условиях постоянной темноты. Через 3 месяца светового десинхроноза эффект оказали KSE-02 и пептидный экстракт гипофиза Северного оленя. Надо заметить, что фармакологический эффект также проявился на ферментах ЛДГ, ФЕППК, Na^+, K^+ -АТФазе, кроме КК и $Hif1\alpha$. Данный факт подтверждает плеiotропное действие регуляторных пептидов в течение длительного времени.

Для биохимической регуляции взаимосвязей между разными клетками и органами с целью обеспечения эффективного метаболизма многоклеточного организма необходимы различные химические регуляторы. Катехоловые молекулы являются компонентами стресс-реализующей системы. В проведенном исследовании выявлено прямое влияние светового режима на концентрацию катехоламинов в плазме крови животных, особенно, дофамина. Концентрация НА через 1 месяц исследования в обоих вариантах светового десинхроноза повысилась, а через 3 месяца, понизилась, но только в условиях постоянной темноты. При «окислительном давлении» через 1 месяц – концентрации НА и А в плазме крови повысились, а

через 3 месяца их содержание понизилось. Нарушение взаимодействия между осцилляторами разных тканей проявилось как в двигательной активности животных в разных режимах освещения, так и в эмоциональной составляющей поведения крыс. Фармакологическая коррекция KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц в условиях постоянного освещения способствует снижению дофамина и повышению норадреналина в плазме крови крыс. В условиях постоянной темноты способствует противоположному эффекту. Через 3 месяца светового десинхроноза после «окислительного давления» фармакологическая коррекция KSE-02, мелатонином и пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг снижает концентрацию НА и А в плазме крови крыс.

Другие химические регуляторы, контролирующие функционирование системы жизнедеятельности организма при длительном световом десинхронозе, нейротрофические факторы также вовлечены в реакцию организма на изменение светового режима. Через 1 месяц эксперимента индуцируются процессы нейродеструкции. Но повышение концентрации фактора, эпителиального происхождения (PEDF) свидетельствует о нарастании репаративных процессов, активации антиоксидантной системы. Использование средств фармакологической коррекции способствовало поддержанию стабильности работы клеток нервной ткани, то есть проявили нейропротекторную активность. KSE-02 проявило эффект в разных режимах освещения, как через 1, так и через 3 месяца исследования. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя проявил наибольшую нейропротекторную активность через 3 месяца эксперимента.

Внешним индикатором уровня дисхронизма на клеточном уровне может быть предложена двигательная активность и оценка когнитивных навыков у экспериментальных животных. При проведении теста на исследование ориентировочно-двигательной активности у животных в условиях «окислительного давления» и постоянного освещения в течение 3 месяцев наблюдается увеличение количества горизонтальных перемещений на 130 % ($p < 0,05$), количества вертикальных стоек на 67,7 %, увеличение средней скорости животных на 93,6 %, и соответственно, увеличение среднего пройденного расстояния на 93 %. Животные, проживающие в условиях постоянной темноты, и при воздействии фактора «окислительного давления», проявили другие качества двигательной активности. Значения всех показателей значительно снизились по сравнению с показателями группы обычное освещение. Такие разнонаправленные изменения при разных режимах освещения свидетельствуют о развитии процессов невротизации, развития депрессии. Видимо, полное отсутствие светового сигнала «расщепляет» взаимодействие эндогенных периферических осцилляторов с центральным пейсмекером и не позволяет двигательной активности выполнять роль основного

ритмозадателя. Применение KSE-02 и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя значительно улучшило ситуацию, как с двигательной активностью, так и на уровне проявления эмоций животных в обоих вариантах изменения светового режима (адаптогенная и ноотропная активности). Это проявилось в эффекте взаимодействия показателей теста «Открытое поле» и исследуемых веществ с режимом освещения через 3 месяца светового десинхроноза.

В тесте на выработку условного рефлекса пассивного избегания болевого раздражителя в процессе обучения у животных, выявлено нарушение когнитивной функции в условиях хронического светового десинхроноза, что подтверждается повышением скорости угасания рефлекса и нарушением процессов консолидации памяти. Двухфакторный анализ не выявил эффектов взаимодействия между фактором освещения и когнитивными навыками. Возможно, что это связано с тем, что высшие психические функции позвоночных животных регулируются несколькими основными ритмозадателями. В нашем эксперименте был нарушен только один ритмозадатель – свет. Но использование пептидов гипофиза Северного оленя способствовало увеличению количества обучаемых животных.

Таким образом, использование модели «окислительного давления» в условиях длительного светового десинхроноза выявило взаимосвязи при десинхронизации внешних и внутренних ритмов, что открывает новые пути фармакологической коррекции для их синхронизации. Учитывая многоуровневую структуру эндогенных биологических часов и возможности использования разных ведущих ритмозадателей, для поддержания гомеостаза внутренней среды организма при нарушении внешних ритмов освещенности необходимо комбинированное фармакологическое воздействие. Природные пептиды и производные мелатонина проявили хронобиотический эффект в условиях хронического светового десинхроноза. Учитывая безопасность этих соединений, хорошую переносимость и эффективность они являются перспективными лекарственными средствами.

ВЫВОДЫ

1. Хронический световой десинхроноз вызывает дисбаланс ферментного и неферментного звена антиоксидантной защиты в тканях головного мозга, что выражается в достоверном повышении активности СОД и достоверном снижении активности ГП и ГТ, Г-6-ФДГ и истощении тиоловой буферной системы клеток. Изменения показателей АОС в эритроцитах носят сходный характер, что может быть использовано для диагностики светового десинхроноза у человека.

2. Двухфакторный дисперсионный анализ выявил, что «усиление окислительного давления» в условиях длительного светового десинхроноза вносит вклад в изменение показателей ДК, МДА, ГТ, усиливая дисбаланс АОС в эритроцитах. В тканях головного мозга через 1 месяц светового десинхроноза такой патогенетический эффект связности выявлен для показателей МДА, СОД, ГП, а через 3 месяца - для показателей МДА и ГТ.

3. Длительное нарушение светового режима истощает биоэнергетические ресурсы организма, что проявляется гипоксией-ассоциированными изменениями. Это подтверждается повышением общей активности креатинкиназы и активности Na^+, K^+ -АТФазы в тканях головного мозга, повышением концентрации HIF1 α в плазме крови через 1 месяц светового десинхроноза. Через 3 месяца светового десинхроноза общая активность креатинкиназы и ЛДГ снижается в тканях головного мозга, а концентрация HIF1 α в плазме крови остается повышенной.

4. Оценка сочетанного действия «усиления окислительного давления» и длительного светового десинхроноза выявляет антагонистический характер взаимодействия Na^+, K^+ -АТФазы, КК, ЛДГ, то есть свидетельствует о дисбалансе энергетического гомеостаза, что предусматривает необходимость фармакологической коррекции.

5. При длительном световом десинхронозе в плазме крови повышается концентрация МВР – маркера деструкции миелиновых оболочек, снижается концентрация нейропротекторного фактора BDNF и повышается содержание фактора PEDF, обладающего апоптотическим и антиангиогенным действием, что определяет необходимость назначения препаратов с нейропротективным действием для восстановления нейропластичности ЦНС.

6. Оценка сочетанного действия «усиления окислительного давления» и длительного светового десинхроноза выявила потенцирующее действие фактора PEDF при гипоксии-ассоциированных изменениях.

7. Дисбаланс АОС, истощение биоэнергетических ресурсов, нарушение гомеостаза нейротрофических факторов в тканях головного мозга при длительном световом десинхронозе

приводит к расстройству высшей нервной деятельности, что проявляется нарушением поисковой и когнитивных функций экспериментальных животных.

8. Производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановой кислоты (производного мелатонина) в дозе 100 мкг/кг интраназально при хроническом введении установило его антиоксидантный, антигипоксанта́нный и хронобиотический эффекты, что доказывается в модели «усиления окислительного давления» при длительном световом десинхронозе. При различных режимах светового режима выявлено снижение концентрации ДК и МДА в эритроцитах и в тканях головного мозга, восстановление тиолового баланса и активности ферментного звена АОС, снижение концентрации $\text{NIF1}\alpha$ в плазме крови.

9. Хронобиотический эффект производного мелатонина при длительном световом десинхронозе проявляется в увеличении количества горизонтальных передвижений животными, в увеличении средней скорости животных, среднего пройденного расстояния, нормализации эмоционального фона, в увеличении количества обученных животных через 24 часа после обучения.

10. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*) в дозе 100 мкг/кг интраназально при хроническом введении *in vivo* в условиях сочетанного действия «усиления окислительного давления» и длительного светового десинхроноза проявляет наличие антиоксидантной, антигипоксанта́нной, нейропротекторной активности. В эритроцитах максимальный антиоксидантный и хронобиотический эффекты обнаружен через 3 месяца светового десинхроноза, а в тканях головного мозга животных - как через 1, так и через 3 месяца светового десинхроноза. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя способствует восполнению запасов ВГ, повышению активности Г-6-ФДГ в тканях головного мозга, снижению концентрации $\text{NIF1}\alpha$ в плазме крови.

11. Адаптогенный эффект пептидного экстракта гипофиза Северного оленя при длительном световом десинхронозе способствует восстановлению двигательной активности животных, нормализации эмоционального фона, воспроизведению полученной информации.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Разработанная модель «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза может быть использована в исследованиях эффективности различных субстанций для выявления их антиоксидантного, метаболического, ноотропного действия.

2. Выявленные изменения показателей АОС в эритроцитах могут быть использованы для диагностики нарушений, связанных с хроническим световым десинхронозом.

3. Для поддержания функционального состояния организма при выполнении задач, требующих высокой концентрации внимания, фиксации определенной информации в условиях хронического изменения светового режима, возможно использование соединений с антиоксидантной, хронобиотической, адаптогенной активностью.

ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ

Учитывая, что циркадианные ритмы определяют широкий спектр физиологических и метаболических функций человека, расшифровка их взаимодействия с различными факторами внешней среды, с патологическими проявлениями эндогенных нарушений в организме, обеспечит долгожданный «проблеск» для персонализированного подхода в медицине. Так, перспективным представляется дальнейшее изучение воздействия длительного светового десинхроноза в разные сроки онтогенеза и его взаимодействия с другими факторами внешней среды. Изучение развития метаболического синдрома, психических расстройств при длительном световом десинхронозе как одного из факторов, лежащих в основе данных патологических состояний, или усугубляющих их протекание, также будет востребовано в практическом здравоохранении. Нарушение деятельности сердечно-сосудистой системы при сочетанном воздействии разных фармакологических субстанций и длительного светового десинхроноза. Перспективным является изучение продолжительности жизни человека, репродуктивной функции, устойчивости иммунной системы к патогенам разного происхождения в условиях длительного светового десинхроноза.

СПИСОК УСЛОВНЫЙ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АДФ – аденозиндифосфат
АОС – антиоксидантная система
АТФ – аденозинтрифосфат
АФК – активные формы кислорода
ВГ – восстановленный глутатион
Г-6-ФДГ – глюкозо-6-фосфатдегидрогеназа
ГАМК – гаммааминомаслянная кислота
ГП – глутатионпероксидаза
ГР – глутатионредуктаза
ГТ – глутатион-S-трансфераза
ДА в центре – двигательная активность в центре площадки
ДА на периферии – двигательная активность на периферии площадки
ДК – диеновые конъюгаты
ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
ДТНБ – 5,5-дитио-бис (-2-нитробензойной) кислота
Ед. акт./г – единицы активности/грамм
КК – креатинкиназа
ЛДГ – лактатдегидрогеназа
ЛП0 – Латентный период первого захода в темную камеру
ЛП2 – Латентный период захода через 2 часа
ЛП24 – Латентный период захода через 24 часа
МДА – малоновый диальдегид
НАДН⁺ – никотинамид-β-аденин динуклеотид
НАДФН⁺ – никотинамид-β-аденин динуклеотид фосфат
ОДА – общая двигательная активность
ПОЛ – перекисное окисление липидов
СК2 – Время нахождения в светлой камере через 2 часа
СК24 – Время нахождения в светлой камере через 24 часа
СОД – супероксиддисмутаза
ТБК – тиобарбитуровая кислота
ТК2 – Время нахождения в темной камере через 2 часа
ТК24 – Время нахождения в темной камере через 24 часа

УРПИ – условная реакция пассивного избегания

ФД – фактор детерминации

ФЕПКК – фосфоенолпируваткарбоксикиназа

ЦНС – центральная нервная система

AP-1 – транскрипционный фактор (Activating Protein-1)

BDNF – нейротрофический фактор головного мозга (Brain Derived Neurotrophic Factor)

СК-ВВ – креатинкиназа, содержащаяся в нервной ткани

GFAP – глиальный фибриллярный кислый протеин (Glial Fibrillary Acidic Protein)

KSE-02 – сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1H-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота

MBP – основной белок миелина (Myelin Basic Protein)

МТ – мелатонин (Melatonin)

Nrf2/ARE – редокс-чувствительный элемент, состоящий из: Nrf2 - транскрипционный фактор, связанный с эритроидным ядерным фактором 2 (Nuclear erythroid 2-related factor2) индуцирует экспрессию гена, путем связывания с ARE – антиоксидантный респонсивный элемент (Antioxidant Response Element).

NSE – нейронспецифическая енолаза (Enolase, Neuron Specific)

PEDF – пигментный фактор эпителиального происхождения (Pigment Epithelium Derived Factor)

PPAR γ – Гамма - рецептор, активируемый пролифератором пероксисом, представляет собой ядерный рецептор II типа, функционирующий как фактор транскрипции

S100 – кальций связывающий белок

SIRT1-7 – Ферменты – сиртуины, семейство с 1 по 7, разной клеточной локализации (Silent Information Regulator)

SREBP-1 – стерол-регулируемый элемент-связывающий белок-1 (sterol regulatory element-binding protein-1)

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян, Н.А. Биоритмы, среда обитания, здоровье. / Н.А. Агаджанян, И.В. Радыш. – М.: РУДН, 2013. – 362 с.
2. Агаджанян, Н.В. Десинхроноз: механизмы развития от молекулярно-генетического до организменного уровня / Н.В. Агаджанян, Д.Г. Губин // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т.35. – № 2. – С. 57-72.
3. Алексеева, Г. В. Применение семакса в отдаленном периоде у больных с постгипоксической патологией мозга / Г. В. Алексеева, Н. А. Боттаев, В. В. Горошкова // Анестезиология и реаниматология. – 1999. – № 1. – С. 40-43.
4. Алякринский, Б.С. Закон циркадианности и проблема десинхроноза / Б.С. Алякринский // Проблемы хронобиологии, хронопатологии, хронофармокологии и хрономедицины. – 1985. – Т. 1. – С. 6-7.
5. Алякринский, Б.С. По закону ритма / Б.С. Алякринский. – М.: Наука, 1985. – 172 с.
6. Андреев, В.П. Регуляция норадреналином биосинтеза Na,K-АТФазы и ее низкомолекулярного ингибитора / В.П. Андреев, Н.Р. Елаев, А.Р. Унжаков // Нейрохимия. – 1984. – Т. 3. – № 4. – С. 443.
7. Анисимов, В.Н. Влияние пептида эпифиза на показатели биологического возраста и продолжительность жизни мышей / В.Н. Анисимов, В.Х. Хавинсон, Н.Ю. Заварзина [и др.] // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2001. – Т. 87. – № 1. – С. 125-135.
8. Анисимов, В.Н. Мелатонин и его место в современной медицине / В.Н. Анисимов // Российский медицинский журнал. – 2006. – Т. 14. – № 4. – С. 269-273.
9. Анисимов, В.Н. Применение пептидных биорегуляторов для профилактики рака: Результаты 35-летних исследований и перспективы / В.Н. Анисимов, В.Х. Хавинсон // Вопросы онкологии. – 2009. – Т. 55. – № 3. – С. 291-304.
10. Анисимов, В.Н. Световой десинхроноз и риск злокачественных новообразований у человека: состояние проблемы / В.Н. Анисимов, И.А. Виноградова, А.В. Букалев [и др.] // Вопросы онкологии. – 2013. – Т. 59. – №3. – С. 302-313.
11. Анисимов, В.Н. Синдром ускоренного старения при воздействии канцерогенных факторов окружающей среды / В.Н. Анисимов // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2010. – Т. 96. – № 8. – С. 817-833.
12. Анисимов, В.Н. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин / В.Н. Анисимов, И.А. Виноградова. – СПб: Изд-во «Система», 2008. – 44 с.

13. Анисимов, В.Н. Эпифиз, мелатонин и старение / В.Н. Анисимов // Хронобиология и хрономедицина: Руководство / ред. С.И. Рапопорт, В.А. Фролов, Л.Г. Хетагурова. – М.: ООО «Медицинское информационное издательство», 2012. – С. 284-332.
14. Анохин, К.В. Молекулярные сценарии консолидации долговременной памяти / К.В. Анохин // Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова. – 1997. – Т. 47. – № 2. – С. 261–279.
15. Анохин, К.В. Системная организация поведения: новизна как ведущий фактор экспрессии ранних генов в мозге при обучении / К.В. Анохин, К.В. Судаков // Успехи физиологических наук. – 1993. – Т. 3. – № 24. – С. 73–70.
16. Анохин, П.К. Очерки физиологии функциональных систем / П.К. Анохин. – М.: Медицина, 1975. – 402 с.
17. Аристакесян, Е.А. Эволюционные аспекты взаимодействия сна и стресса: фило- и онтогенетический подход / Е.А. Аристакесян // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2009. – Т. 45. – № 6. – С. 598-611.
18. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: Методические рекомендации / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.Н. Зыбина. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2000. – 23 с.
19. Арушанян, Э.Б. Хронобиология депрессии: роль супрахиазматических ядер гипоталамуса и часовых генов / Э.Б. Арушанян // Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова. – 2011. – Т. 111. – № 5. – С. 96-103.
20. Арушанян, Э.Б. Хронофармакология антидепрессантов / Э.Б. Арушанян, В.А. Батурич // Фармакология и токсикология. – 1990. – Т. 53. – № 2. – С. 70-75.
21. Ашмарин, И. П. Ноотропный аналог адренокортикотропина 4–10-семакс (15-летний опыт разработки и изучения) / Ашмарин, И. П., Незавибатько, В. Н., Мясоедов, Н. Ф. и др. // Журнал высшей нервной деятельности им. И. П. Павлова. – 1997. – Т. 47, № 2. – С. 420-430.
22. Ашмарин, И. П. Синактоны — функционально связанные комплексы эндогенных регуляторов / И. П. Ашмарин, С. В. Королева, Н. Ф. Мясоедов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2006. – Т. 69, № 5. – С. 3-6.
23. Баевский Р.М., Бреус Т.К., Никулина Г.А., Петров В.М., Черникова А.Г. Влияние изменений магнитного поля Земли на функциональное состояние человека в условиях космического полета / Р. М. Баевский, Т. К. Бреус, Г. А. Никулина [и др.] – М.: ИКИ РАН, 1998. – № 1987. – 37 с.

24. Баевский, Р.М. Прогнозирование состояний на грани нормы и патологии / Р.М. Баевский. – М.: Медицина, 1979. – 298 с.
25. Базян, А.С. Молекулярно-нейрохимические и нейрофизиологические механизмы пластичности: реализация поведения, обучение, консолидация, хранение и воспроизведение памяти / А.С. Базян // Успехи физиологических наук. – 2013. – Т. 44. – № 4. – С. 3-23.
26. Базян, А.С. Молекулярно-химические основы эмоциональных состояний и подкрепления / А.С. Базян, Г.А. Григорьян // Успехи физиологических наук. – 2006. – Т. 37. – № 1. – С. 68–83.
27. Баталова, Т.А. Психобиологические особенности при комплексной коррекции у крыс: автореф. дис. ... д-ра биол. наук.: 03.03.01. / Баталова Татьяна Анатольевна ; ФГБОУ ВО Дальневосточный ГАУ. – Благовещенск, 2011. – 39 с.
28. Башарин, В. А. Экспериментальная оценка состояния системы глутатиона и перекисного окисления липидов в различных органах и тканях при острых отравлениях 1,1-диметилгидразином и фенилгидразином : дис. ... канд. мед. наук: 14.00.20 «Токсикология», 03.00.03 «Молекулярная биология» / Башарин Вадим Александрович. – Санкт-Петербург, 2001. – 174 с.
29. Бейер, Э.В. Роль супрахиазматических ядер гипоталамуса в изменении чувствительности животных к стрессу / Э.В. Бейер, А.В. Попов, Э.Б. Арушанян // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 1999. – Т. 85. – № 3. – С. 372–378.
30. Бердалин, А. Б. Влияние семакса на апоптотическую гибель кардиомиоцитов крыс при необратимой ишемии и ишемии-реперфузии / А. Б. Бердалин, С. А. Гаврилова, А. В. Голубева, и др. // Российский медико-биологический вестник им. академика И П. Павлова. – 2011. – Т. 19, № 2. – С. 13-20.
31. Бериташвили, И.С. Память позвоночных животных, ее характеристика и происхождение. / И.С. Бериташвили. – М.: Наука, 1974. – 186 с.
32. Биологические ритмы: В 2-х т. Пер. с англ. / отв. ред. Ю. Ашофф. – М.: Мир, 1984. – 414с.
33. Биохимические исследования в токсикологическом эксперименте / науч. ред. М.Ф. Савченков – Иркутск: Изд-во Иркутского ун-та, 1990. – 213 с.
34. Болдырев, А.А. Нейрохимия / А.А. Болдырев, Н.Д. Ещенко, В.А. Илюха М. – 2010. – с 400.
35. Бондаренко, Н.А. Влияние L-диоксифенилаланина на поведение крыс и метаболизм катехоламинов мозга крыс с различным уровнем эмоционально-поведенческой

реактивности / Н.А. Бондаренко, И.И. Мирошниченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1987. – Т. 122. – № 4. – С. 168–170.

36. Бондаренко, О.Н. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели крыс / О.Н. Бондаренко, Н.А. Бондаренко, Е.Б. Манухина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 128. – № 8. – С. 157–160.

37. Борисевич, С.Н. Лабораторная диагностика острых отравлений барбитуратами / С. Н. Борисевич, О. М. Вергун, А. А. Шмигельский // Здоровоохранение. – 2011. – № 4. – С. 52–55.

38. Букварева, Е.Н. Задача оптимизации взаимодействия человека и живой природы и стратегия сохранения биоразнообразия / Е.Н. Букварева // Успехи современной биологии. – 1991. – Т. 2. – № 6. – С. 499–508.

39. Бурбаева, Г. Ш. Физиологически активные белки мозга как возможные маркеры психических заболеваний / Г. Ш. Бурбаева // Вестник РАМН. – 1992. – № 7. – С. 51–54.

40. Виноградова, И.А. Влияние пептида Ala-Glu-Asp-Gly на продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самок крыс при различных световых режимах / И.А. Виноградова, А.В. Букалев, М.А. Забежинский [и др.] // Бюллетень экспертной биологии и медицины. – 2007. – № 12. – С. 676-681.

41. Виноградова, И.А. Влияние светового режима и мелатонина на гомеостаз, продолжительность жизни и развитие спонтанных опухолей у самок крыс / И.А. Виноградова, А.В. Букалев, М.А. Забежинский, А.В. Семенченко, В.Н. Анисимов // Успехи геронтологии 2007. – Т. 20. – № 4. – С. 40-47.

42. Виноградова, И.А. Геропротекторный эффект пептида Ala-Glu-Asp-Gly у самцов крыс, содержащихся при различных режимах освещения / И.А. Виноградова, А.В. Букалев, М.А. Забежинский [и др.] // Бюллетень экспертной биологии и медицины. – 2008. – Т. 145. – № 4. – С. 455-460.

43. Виноградова, И.А. Световое загрязнение, десинхроноз и старение: состояние проблемы и пути решения / И.А. Виноградова, В.А. Илюха, Е.А. Хижкин [и др.] // Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27. – № 2. – С. 265-268.

44. Виноградова, И.А. Световой режим Севера и возрастная патология / И.А. Виноградова, В.Н. Анисимов. – Петрозаводск: ПетроПресс, 2012. – 128 с.

45. Виноградова, И.А. Сравнительное изучение влияния различных режимов на психоэмоциональные проявления и двигательную активность у крыс / И.А. Виноградова // Вестник НГУ: Биология, клиническая медицина. – 2006. – Т. 4. – Вып. 2. – С. 69–77.

46. Воронина, Т.А. Ноотропные и нейропротекторные средства / Т.А. Воронина, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология – 2007. – Т. 70. – № 4. – С. 44–58.
47. Гаврилов, В.Б. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой / В.Б. Гаврилов // Вопросы медицинской химии. – 1987. – №1. – С. 118-122.
48. Гехт, К. Взаимоотношения циркадианных и минутных ритмов у крыс линии вистар после космического полета на биоспутнике «Космос-1129» / К. Гехт, Е. Вахтель // Проблемы космической биологии. – 1989. – Т.64. – С.124-140.
49. Голиков, С. Н. Общие механизмы токсического действия / С. Н. Голиков, И. В. Саноцкий, Л. А. Тиунов. – Ленинград : Медицина, 1986. – 279 с.
50. Гомазков, О. А. Нейрогенез как адаптивная функция взрослого мозга / О. А. Гомазков // Успехи современной биологии. – 2013. – Т. 133. – № 4. – С. 349–366.
51. Григорьев, Н.Р. Динамика интегративных параметров ориентировочно-исследовательского и поискового поведения у крыс / Н.Р. Григорьев, Е.Ф. Кириченко, Ю.Б. Темпер, Г.Е. Чербикова // Журнал высшей нервной деятельности.–1998. – Т. 48. – № 5. – С. 868–876.
52. Григорьев, Н.Р. Метод исследования поисковой активности и отказа от поиска в эксперименте у крыс / Н.Р. Григорьев // Журнал высшей нервной деятельности. – 1996. – Т. 46. – № 2. – С. 400–405.
53. Григорьев, Н.Р. Методические и методологические принципы исследования когнитивных способностей крыс / Н.Р. Григорьев, Т.А. Баталова, Г.Е. Чербикова // Успехи физиологических наук. – 2019. – Т. 50. – № 2. – С. 93-104.
54. Григорьев, Н.Р. Функциональная организация поисковой активности при пищевом и оборонительном поведении / Н.Р. Григорьев // Журнал высшей нервной деятельности. – 1998. – Т. 48. – № 1. – С. 75–83.
55. Губин, Г.Д. Хронобиологические проблемы профилактической медицины в организации РТО при экспедиционно-вахтовой форме труда и профессионального отбора / Г.Д. Губин, А.М. Дуров, В.В. Колпаков // Хронобиология и хрономедицина. – Астрахань. – 1988. – С.137-138.
56. Гусев, Е. И. Ишемия головного мозга / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова. – Москва : Медицина, 2001. – 328 с.

57. Гусев, Е. И. Семакс в профилактике прогрессирования и развития обострений у больных с дисциркуляторной энцефалопатией / Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, Е. И. Чуканова // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. – 2005. – Т. 105, № 2. – С. 35-40.
58. Гусев, Е. И. Эффективность семакса при лечении больных на разных стадиях ишемического инсульта / Е. И. Гусев, М. Ю. Мартынов, Е. В. Костенко, и др. // Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2018. – Т. 118, № 3. – С. 61-68.
59. Деряпа, Н.Р. Проблемы медицинской биоритмологии / Н.Р. Деряпа, М.П. Мошкин, В.С. Посный. – М. : Медицина. – 1989. – 207 с.
60. Дубинина, Е. Е. Биологическая роль супероксиданион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма / Е. Е. Дубинина // Успехи современной биологии. – 1989. – Т. 108. – № 1(4). – С. 3–17.
61. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клиничко-биохимические аспекты. – СПб.: Издательство Медицинская пресса. – 2006. – 400с.
62. Дубровина, Н. И. Дофаминергические механизмы памяти и внимания / Н.И. Дубровина, Л.В. Лоскутова. – Новосибирск: СО РАМН. – 2003. – 200 с.
63. Дубровина, Н.И. Особенности угашения условной реакции пассивного избегания мышей с разным уровнем тревожности / Н.И. Дубровина, Р.А. Томиленко // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2006. – Т. 92. – № 9. – С. 1092–1099.
64. Елаев, Н.Р. Эндогенные ингибиторы и активаторы Na,K-АТФазы / Н.Р. Елаев, В.П. Андреев, Н.В. Шаврина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. –1983. – Т. 95. – № 2. – С. 40–42.
65. Ещенко, О.В. Рефлекс осторожности как ограничитель скорости когнитивного процесса / О.В. Ещенко // Успехи современной биологии – 1999. – Т. 119. – № 3. – С. 303–310.
66. Жуйкова, С. Е. Физиологические и клинические эффекты синтетического аналога АКТГ4–10 семакса и его механизмы действия / С. Е. Жуйкова // Интегративная физиология. – 2022. – Т. 3, № 2. – С. 204-220.
67. Забродин, И.Ю. Индивидуально-типологические особенности поведения крыс в условиях открытого поля / И.Ю. Забродин, Е.С. Петров, Н.С. Лазаренко // Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова. – 1989. – Т. 39. – Вып. 1. – С. 59–65.
68. Загускин, С.Л. Лазерная и биоуправляемая квантовая терапия / С.Л. Загускин, С.С. Загускина. – М. : «Квантовая медицина», 2005. – 220 с.
69. Загускин, С.Л. Ритмы клетки и здоровье человека / С.Л. Загускин. – Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ, 2010. – 216 с.

70. Зарецкий, Д.В. Активность моноаминергических систем гипоталамуса крыс при остром стрессе после хронического стрессирования / Д.В. Зарецкий, Е.И. Каленикова // Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова. – 1999. – Т. 49. – № 2. – С. 313–319.
71. Зозуля, Ю. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю. А. Зозуля, В. А. Барабой, Д. А. Сутковой. – Москва : Знание-М, 2000. – 344 с.
72. Иноземцев, А.Н. Обратимое нарушение реакции избегания как методическое средство для изучения действия психотропных препаратов на высшую нервную деятельность / А.Н. Иноземцев, Л.Л. Прагина // Журнал высшей нервной деятельности – 1989. – Т. 39 – № 4. – С. 764-766.
73. Калмансон, М.Л. Гипоксия и её коррекция у больных с острыми отравлениями ядами нейротропного действия : дис. ... д-ра мед. наук : спец. 14.03.04 «Токсикология»/ Калмансон Михаил Львович. – Санкт-Петербург, 2001. – 251 с.
74. Капцов, В.А. Эволюция искусственного освещения: взгляд гигиениста / Под ред. М. Ф. Вильк, В. А. Капцова. – Москва: Российская Академия Наук, 2021. — 632 с. — 300 экз. — ISBN 978-5-907336-44-2.
75. Карманова, И.Г. Физиология и патология цикла бодрствования - сон: эволюционные аспекты / И.Г. Карманова, Г.А. Оганесян. – СПб. : Наука. – 198 с.
76. Карп, В.П. Математические методы исследования биоритмов / В.П. Карп. // Хронобиология и хрономедицина.– Москва, 1989. – С. 29–45.
77. Кательникова, А.Е. Интраназальное введение лекарственных средств лабораторным животным / А.Е. Кательникова., К.Л., Крышень, А.А. Зуева, М.Н. Макарова // Лабораторные животные для научных исследований – 2019; Т. 2. <https://doi.org/10.29296/2618723X-2019-02-09>
78. Кашуро, В. А. Изучение роли антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в патогенезе тиопенталовой комы / В. А. Кашуро, В. Б. Долго-Сабуров, С. Г. Дагаев [и др.] // Химическая и биологическая безопасность. – 2012. – № 5. – С. 3–7.
79. Кашуро, В. А. Некоторые механизмы нарушения биоэнергетики и оптимизация подходов к их фармакотерапии / В. А. Кашуро, В. Б. Долго-Сабуров, В. А. Башарин [и др.] // Medline.ru. Российский биомедицинский журнал. – 2010. – Т. 11., № 2. – С. 611–634.
80. Кашуро, В. А. Система глутатиона и перекисное окисление липидов в патогенезе острых тяжелых интоксикаций циклофосфаном : спец. 14.00.20 «Токсикология», 03.00.04 «Биохимия» : дис. ... канд. мед. наук / Кашуро Вадим Анатольевич. – Санкт-Петербург, 2003. – 209 с.

81. Кашуро, В.А. Моделирование токсической комы веществами депримирующего действия / В.А. Кашуро, Е.Г. Батоцыренова, В.К. Козлов [и др.]. – СПб: ИТ ФМБА России, 2018. – 104 с.
82. Колчинская, А. З. О классификации гипоксических состояний / А. З. Колчинская // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1981. – № 4. – С. 3–10.
83. Комаров, Ф.И. Медико-биологические эффекты солнечной активности. / Ф.И. Комаров, Т.К. Бреус, С.И. Рапопорт [и др.] // Вестник академии медицинских наук. – 1994. – № 9. – С. 37-50.
84. Комаров, Ф.И. Мелатонин и биоритмы организма / Ф.И. Комаров, Н.К. Малиновская, С.И. Рапопорт // Хронобиология и хрономедицина: руководство. – М.: Триада-Х, 2000. – С. 82-90.
85. Корягина, Ю.В. Cosinor Ellipse / Ю.В. Корягина, С.В. Нопин // Программы для ЭВМ. – 2006. – № 3 (56). – С. 42.
86. Костенко Е.В. Десинхроноз как один из важнейших факторов возникновения и развития цереброваскулярных заболеваний / Е.В. Костенко, Т.М. Маневич, Н.А. Разумов // Лечебное дело. – 2013. – № 2. – С. 104-116.
87. Кострова Т.А. Биохимические и поведенческие показатели в отдаленный период после острых отравлений нейротоксикантами и их фармакологическая коррекция : спец. 14.03.04 «Токсикология» : дис. ... канд. мед. наук / Кострова Таисия Александровна. – Санкт-Петербург, 2019. – 188 с.
88. Кругликов, Р. И. Нейрохимические механизмы обучения и памяти / Р. И. Кругликов. – Москва : «Наука», 1981. – 211 с.
89. Крушинский, Л.В. Биологические основы рассудочной деятельности / Л.В. Крушинский. – М.: Изд-во МГУ, 1986. – 271 с.
90. Крыжановский, Г.Н. Некоторые общебиологические закономерности и базовые механизмы развития патологических процессов / Г.Н. Крыжановский // Архив патологии. – 2001. – № 6. – С. 44–49.
91. Кулинский, В.И. Две адаптационные стратегии в неблагоприятных условиях – резистентная и толерантная. Роль гормонов и рецепторов / В.И. Кулинский, И.А. Ольховский // Успехи современной биологии. – 1992. – Т. 112. – Вып. 5/6. – С. 697–713.
92. Кулинский, В.И. Структура, свойства, биологическая роль и регуляция глутатионпероксидазы / В. И. Кулинский, Л. С. Колесниченко // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113. – № 1. – С. 107–122.

93. Латюшин, Я.В. Анализ тревожно-фобического состояния крыс в результате действия острого и хронического стрессов / Я.В. Латюшин, В.И. Павлова, Н.В. Мамылина [и др.] // Вестник Уральской медицинской академической науки. – Екатеринбург. – 2006. – № 3 (2). – С. 109-110.
94. Левицкая, Н.Г. Исследование спектра физиологической активности аналога АКТГ4-10 гептапептида семакс / Н.Г. Левицкая, Н.Ю. Глазова, Е.А. Себенцова [и др.] // Нейрохимия. – 2008. – Т. 25. – № 1. – С. 111–118.
95. Ливанов, Г.А. Особенности клинической картины острых отравлений производными барбитуровой кислоты и их терапии у пациентов пожилого и старческого возраста / Г. А. Ливанов, А. Н. Лодягин, А. Л. Коваленко [и др.] // Успехи геронтологии. – 2018. – Т. 31. – № 2. – С. 239–245.
96. Липская, Т. Ю. Еще раз о функциональном сопряжении митохондриальной креатинкиназы и транслоказы адениловых нуклеотидов / Т.Ю. Липская, М.С. Савченко// Биохимия. – 2003. – Т. 68. – №1. – С. 82–95.
97. Лужников, Е. А. Клиническая токсикология / Е.А. Лужников. – Москва : Медицина, 1982. – 368 с.
98. Лужников, Е.А. Особенности формирования и течения токсикогипоксической энцефалопатии при острых отравлениях веществами нейротоксического действия / Е.А. Лужников, Н.Ф. Леженина, Ю.С. Гольдфарб, Н.М. Епифанова // Анестезиология и реаниматология. – 2005. – № 6. – С. 4–8.
99. Лукьянова, Л.Д. Биохимические основы формирования механизмов адаптации к гипоксии / Л.Д. Лукьянова. // Эколого-физиологические проблемы адаптации. – Москва, 1994. – С. 161–164.
100. Лукьянова, Л.Д. Биоэнергетическая гипоксия: понятие, механизмы и способы коррекции / Л.Д. Лукьянова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – Т. 124, № 9. – С. 244–254.
101. Лукьянова, Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции / Л.Д. Лукьянова // Патологическая физиология и экспертная терапия. – 2011. – № 1. – С. 3–19.
102. Лукьянова, Л.Д. Современные проблемы гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Вестник РАМН. – 2000. – № 9. – С. 3–12.
103. Макаренко, Е.Ю. Фрагмент кортиколиберина CRF4-6 разнонаправленно изменяет поведение крыс в стрессирующих и бесстрессовых условиях / Е.Ю. Макаренко, Д.В. Цвиркун,

Л.А. Андреева, А.А. Мартьянов // Журнал высшей нервной деятельности – 2005. – Т. 55. – №3. – С. 371–377.

104. Мамылина, Н. В. Физиологические аспекты поведенческой активности животных в условиях эмоционального стресса: монография / Н. В. Мамылина, В. И. Павлова. – Челябинск : ЗАО «Цицеро», 2013. – 298 с.

105. Мамылина, Н.В. Критерии повреждающего эффекта длительного эмоционального стресса на организм животных: дис. ... канд. биол. наук : 03.00.13 / Н.В. Мамылина, Челябинский пед. ун-т. – Челябинск, 1996. – 128 с.

106. Маркелова, Е. В. Нейропептиды как маркеры повреждения головного мозга [Электронный ресурс] / Е. В. Маркелова, А. А. Зенина, Р. В. Кадыров // Современные проблемы науки и образования. – 2018. – № 5. Режим доступа: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=28099>.

107. Маркель, А.Л. К оценке основных характеристик поведения крыс в тесте открытого поля / А.Л. Маркель // Журнал высшей нервной деятельности. – 1981. – Т. 31. – № 2. – С. 301–307.

108. Маслова, М.В. Влияние на центральную нервную систему анте- и постнатальной гипоксии и их коррекция пептидными гормонами. / М.В. Маслова, А.С. Маклакова, Н.А. Соколова [и др.] // Российский физиологический журнал имени И.М. Сеченова. – 2002. – Т. 88. – № 2. – С. 184–190.

109. Машковский, М.Д. Фармакология антидепрессантов / М.Д. Машковский, Н.И. Андреева, А.И. Полежаева. – Москва.: Медицина, 1983. – 121 с.

110. Медицинские лабораторные технологии. Справочник / отв. ред. А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – Т.2 – С. 23-24.

111. Меерсон, Ф.З. Адаптационная медицина. Концепция долговременной адаптации / Ф.З. Меерсон. – Москва, 1993. – 200 с.

112. Меерсон, Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика / Ф.З. Меерсон. – Москва, 1981. – 200 с.

113. Мельников, А.В. Выбор показателей поведенческих тестов для оценки типологических особенностей поведения крыс / А.В. Мельников, М.А. Куликов // Журнал высшей нервной деятельности имени И.П. Павлова. – 2004. – Т. 54. – № 5. – С. 712–717.

114. Мендель, В.Э. Мелатонин: роль в организме и терапевтические возможности. Опыт применения препарата мелаксен в российской медицинской практике / В.Э. Мендель, О.И. Мендель // Русский медицинский журнал. – 2010. – Т. 18. – № 4. – С. 336–341.

115. Меньшиков, В.В. Лабораторные методы исследования в клинике: справочник / В.В. Меньшиков, Л.Н. Делекторская, Р.П. Золотницкая; под ред. В.В. Меньшикова. – Москва : Медицина, 1987. – С. 189–190.
116. Минкевич, Н. И. PEDF – неингибиторный серпин с нейропротекторной и антиангиогенной активностями / Н. И. Минкевич, В. М. Липкин, И. А. Костанян // *Acta naturae*. – 2010. – Т. 2. – № 3(6). – С. 74–78.
117. Морозов, В.Г. Новый класс биологических регуляторов многоклеточных систем – цитомедины / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон // *Успехи современной биологии*. – 1983. – Т. 9. – Вып. 3. – С. 339.
118. Морозов, В.Г. Пептидные тимомиметики / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон, В.В. Малинин – СПб. : Наука, 2000. – 158 с.
119. Мясоедов, Н.Ф. Изучение механизмов нейропротекторного действия семакса в остром периоде ишемического инсульта / Н.Ф. Мясоедов, В.И. Скворцова, Е.Л. Насонов [и др.] // *Журнал неврологии и психиатрии имени С.С. Корсакова* – 1999. – Т. 99. – № 5. – С. 15-19.
120. Новиков, В.Е. Фармакология и биохимия гипоксии / В.Е. Новиков, Н.П. Катунина // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. – 2002. – Т. 1, № 2. – С. 73-87.
121. Новиков, В.С. Деадаптационные состояния человека при экстремальных воздействиях и их коррекция / В.С. Новиков, С.И. Сороко, Е.Б. Шустов. – СПб.: Политехника-принт, 2018. – 548 с.
122. Новиков, В.С. Коррекция функциональных состояний при экстремальных воздействиях / В.С. Новиков, Е.Б. Шустов, В.В. Горанчук. – СПб.: Наука, 1998. – 544 с.
123. Новиков, В.С. Физиология экстремальных состояний / В.С. Новиков, В.В. Горанчук, Е.Б. Шустов. – Санкт-Петербург : Наука, 1998. – 247 с.
124. Носов, А. В. Коррекция нарушений энергетического обмена при острых отравлениях депримирующими ядами / А. В. Носов, В. А. Башарин, Е. Ю. Бонитенко, Н. А. Белякова // *Medline.ru. Российский биомедицинский журнал*. – 2014. – Т. 15. – С. 195–208.
125. Оковитый, С. В. Клиническая фармакология антиоксидантов / С. В. Оковитый // *ФАРМиндекс-Практик*. – 2003. – № 5. – С. 85–111.
126. Оковитый, С.В. Методология совместного анализа одновременно протекающих патологических процессов у лабораторных животных / С.В. Оковитый, Н.В. Петрова, Е.Б. Шустов [и др.] // *Биомедицина*. – 2019. – Т.15. – № 4. – С. 82–97.
127. Осинцев Н.С., «Биотехнологические инновации в северном оленеводстве» / Н.С. Осинцев, А.Н. Осинцев. – Ярославль, 2016. – 191 с.

128. Патент № 2655813 Российская Федерация, МПК А61К 31/00 (2006/01), А61К 31/405 (2006/01), А61Р 25/00 (2006/01) Средство коррекции и профилактики состояний, вызванных нарушением суточных ритмов: заявл. 09.06.2017: опубл. 29.05.2018 / Батоцыренова Е.Г., Иванов М.Б., Кашуро В.А., Краснов К.А. – 18 с.

129. Патент № 2696773 Российская Федерация, МПК А61К 9/52 (2006.01), А61К 35/12 (2015.01) Способ получения лекарственного препарата пептидной природы с контролируемым и последовательным высвобождением: заявл. 13.08.2018: опубл. 06.08.2019 / Осинцев А.Н., Шарабанов А.В. – 2 с.

130. Перцов, С.С. Мелатонин в системных механизмах эмоционального стресса / С.С. Перцов. – Москва: Издательство РАМН, 2011. – 232 с.

131. Полетаев, А. Б. Мозгоспецифические белки группы S-100, их эндогенные акцепторы и лиганды, и регуляция метаболических процессов в нервной ткани : спец. 03.00.04 «Биохимия» : дисс. ... д-ра. мед. наук / Полетаев Александр Борисович. – Москва, 1987. – 228 с.

132. Рапопорт, С.И. Мелатонин: перспективы применения в клинике / С.И. Рапопорт. – М.: ИМА-ПРЕСС, 2012. – 176 с.

133. Семенов, Х.Х. Влияние препаратов пептидного происхождения и их комбинаций на устойчивость крыс к острой гипобарической гипоксии / Х.Х. Семенов, Н.Н. Каркищенко, В.Н. Каркищенко [и др.] // Биомедицина. – 2012. – № 4. – С. 45-48.

134. Сиротинин, Н.Н. Эволюция резистентности и реактивности организма / Н.Н. Сиротинин – М.: Медицина, 1981. – 233 с.

135. Скворцова, В.И. Изучение содержания фактора роста нервов и антител к нему у больных с острой церебральной ишемией / В.И. Скворцова, Н.Ф. Мясоедов, Т.П. Ключник [и др.] // Современные подходы к диагностике и лечению нервных и психических заболеваний. – СПб., 2000. – С. 332-333.

136. Соколова, Н.А. Пренатальный гипоксический стресс: физиологические и биохимические последствия, коррекция регуляторными пептидами / Н.А. Соколова, М.В. Маслова, А.С. Маклакова, И.П. Ашмарин // Успехи физиологических наук. – 2002. – Т. 33. – № 2. – С. 56–67.

137. Стальная, И. Д. Метод определения диеновой конъюгации ненасыщенных высших жирных кислот / И. Д. Стальная // Современные методы в биохимии : книга / под ред. В. Н. Ореховича. – Москва : Медицина, 1977. – С. 63–64.

138. Судаков, К.В. Системное квантовое поведение / К.В. Судаков // Успехи физиологических наук. – 1983. – Т.14, № 1. – С. 3–26.

139. Судаков, К.В. Системные механизмы эмоционального стресса / К.В. Судаков. – М.: Медицина, 1981. – 230 с.
140. Умнов, Р.С. Нейропротекторные эффекты пептидных биорегуляторов у людей разного возраста: обзор литературы / Р.С. Умнов, Н.С. Линькова, В.Х. Хавинсон // Успехи геронтологии – 2013. – Т. 26, № 4. – С. 671–678.
141. Хавинсон, В.Х. Пептидные биорегуляторы и старение. / В.Х. Хавинсон, В.Н. Анисимов. – СПб: Наука, 2003. – 223с.
142. Хавинсон, В.Х. Пептиды эпифиза и тимуса в регуляции старения / В.Х. Хавинсон, В.Г. Морозов – СПб: Фолиант, 2001. – 160 с.
143. Хавинсон, В.Х. Роль пептидов в регуляции старения: результаты и перспективы исследований / В.Х. Хавинсон, В.Н. Анисимов // Вестник РАМН. – 2010. – № 2. – С. 37-45.
144. Хавинсон, В. Х. Лекарственные пептидные препараты: прошлое, настоящее, будущее / В. Х. Хавинсон // Клиническая медицина. – 2020. – т. 98, № 3. – с. 165-177.
145. Хетагурова, Л.Г. Стресс (хрономедицинские аспекты) / Л.Г. Хетагурова. – Владикавказ: Проект-Пресс, 2010. – 192 с.
146. Хильденбрандт, Г., Хронобиология и хрономедицина. Перевод с нем. / Г. Хильдебрандт, М.М. Леховер. – М.: Арнебия, 2006. – 144с.
147. Хронобиология и хрономедицина / отв. ред. С. М. Чибисов, С. И. Рапопорт, М.Л. Благоднаров. – М.: Триада-Х, 2018. – 828 с.
148. Хронобиология и хрономедицина / Под ред. С. И. Рапопорта, В.А. Фролова, Л.Г. Хетагуровой – М.: Триада-Х, 2012. – 480 с.
149. Ценцевицкий, А.Н. Адренэргическая модуляция проведения возбуждения в периферических синапсах / А.Н. Ценцевицкий, В.Ф. Хузахметова, Э.А. Бухараева // Биологические мембраны. – 2019. – Т. 36, № 3. – С.176-183.
150. Чернышева, М.П. Гормональный фактор пространства и времени внутренней среды организма / М.П. Чернышева, А.Д. Ноздрачев – СПб.: Наука, 2006. – 246 с.
151. Чехонин, В. П. Основной белок миелина. Строение, свойства, функции, роль в диагностике демиелинизирующих заболеваний / В. П. Чехонин, О. И. Гурина, Т. Б. Дмитриева // Биомедицинская химия. – 2000. – Т. 46. – № 6. – С. 549–563.
152. Чибисов, С.М. Особенности десинхроноза при сменном режиме работы и у пациентов с тяжелой соматической патологией / С.М. Чибисов, М.В. Дементьев // Клиническая медицина. – 2014. – Т. 92, №8. – С. 36-40.

153. Шабанов, П. Д. Доказательность нейропротекторных эффектов полипептидных препаратов: нерешенные вопросы / П. Д. Шабанов // *Нервные болезни*. – 2011. – № 1(4). – С. 17–20.
154. Шарабанов А.В., Нестеров И.И. Заготовка и особенности сбора, консервирования элементов головного мозга северного оленя и его придатков, предназначенных для переработки и выделения регуляторов гомеостаза/ А.В. Шарабанов, И.И. Нестеров/ *Методические указания*. – Фермент. – 2017. – 40с.
155. Швецов, А.В. Влияние экспериментальной комы на экспрессию белка bcl-2 и каспаз-3,9 в мозге крыс / А.В. Швецов, Н.А. Дюжикова, Ю.Н. Савенко [и др.] // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2015. – Т. 160. – № 8. – С. 178–181.
156. Швецов, А.В. Исследование маркеров структурно-функциональных нарушений центральной нервной системы крыс на экспериментальной модели тиопенталовой комы / А.В. Швецов, Е.Г. Батоцыренова, С.В. Степанов, М.Б. Иванов // *Нейрохимия*. – 2016. – Т. 33, № 4. – С. 332–336.
157. Шевченко, К. В. Сравнение фармакокинетики и метаболизма Pro-Gly-Pro-Leu в крови и мозге крыс при интраназальном и внутривенном введении. / Шевченко, К. В., Вьюнова, Т. В., Андреева, Л. А. [и др.] // *Доклады Академии наук*. – 2014. – Т. 456. – С.613-617. 10.7868/S0869565214170290.
158. Abalan, F. Paradoxical effect of severe dietary restriction on Long-Evans rat life span / F. Abalan, W. Mayo H. Simon [et al.] // *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* – 2010. – Vol. 80. – P.386-393.
159. Adachi, M. Selective loss of brain-derived neurotrophic factor in the dentate gyrus attenuates antidepressant efficacy / M. Adachi, M. Barrot, A.E. Autry [et al.] // *Biol Psychiatry*. – 2008. – Vol. 63. – P. 642–649.
160. Adamovich, Y. Rhythmic Oxygen Levels Reset Circadian Clocks through HIF1alpha / Y. Adamovich, B. Ladeuix, M. Golik [et al.] // *Cell Metab.* – 2017. – Vol. 25. – P. 93–101.
161. Akhtar, R.A. Circadian cycling of the mouse liver transcriptome, as revealed by cDNA microarray, is driven by the suprachiasmatic nucleus./ R.A. Akhtar, A.B. Reddy, E.S. Maywood [et al.] // *Curr. Biol.* – 2002. – Vol.12. – P.540-550.
162. Allain, C.C. Enzymatic determination of total serum cholesterol/ C.C. Allain, L.S. Poon, C.S.G. Chan [et al.] // *Clin Chem.* – 1974. – Vol. 20. – P. 470-475.
163. Anderson, R.M. Caloric restriction and aging: Studies in mice and monkeys / R.M. Anderson, D. Shanmuganayagam, R. Weindruch // *Toxicol. Pathol.* – 2009. – Vol. 37. – P. 47-51.

164. Antoch, M.P. Pharmacological modulators of the circadian clock as potential therapeutic drugs: focus on genotoxic/anticancer therapy / M.P. Antoch, R.V. Kondratov // *Handb. Exp. Pharmacol.* – 2013. – Vol. 217. – P. 289–309.
165. Arble, D.M. Circadian timing of food intake contributes to weight gain/ D.M. Arble, J.Bass, A.D. Laposky, M.H. Vitaterna, F.W. Turek // *Obesity* – 2009. – 17. –P. 2100-2102.
166. Asher, G. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals / G. Asher, U. Schibler // *Cell Metab.* – 2011. – Vol. 13 – P. 125–137.
167. Asher, G. Poly(ADP-ribose) polymerase 1 participates in the phase entrainment of circadian clocks to feeding / G. Asher, H. Reinke, M. Altmeyer [et al.] // *Cell.* – 2010. – Vol. 142. – P. 943–953.
168. Asher, G. SIRT1 regulates circadian clock gene expression through PER2 deacetylation. / G. Asher, D. Gatfield, M. Stratmann [et al.] // *Cell.* – 2008. – Vol. 134. – P. 317–328.
169. Avitabile, D. Peroxiredoxin 2 nuclear levels are regulated by circadian clock synchronization in human keratinocytes / D. Avitabile, A. Nicolussi, A.L. Capriotti [et al.] // *Int J Biochem Cell Biol.* – 2014. – Vol. 53. – P. 24– 34.
170. Bae, K. Differential functions of mPer1, mPer2, and mPer3 in the SCN circadian clock / K. Bae, X. Jin, E.S. Maywood [et al.] // *Neuron.* –2001. –Vol. 30. – P.525-536.
171. Bai, P. PARP-1 inhibition increases mitochondrial metabolism through SIRT1 activation / P. Bai, C. Canto', H. Oudart [et al.] // *Cell Metab.* – 2011. – Vol. 13. – P. 461–468.
172. Balsalobre, A. A serum shock induces circadian gene expression in mammalian tissue culture cells / A. Balsalobre, F. Damiola, U. Schibler // *Cell.* – 1998. – Vol. 93. – P. 929–937.
173. Balsalobre, A. Multiple signaling pathways elicit circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts / A. Balsalobre, L. Marcacci, U. Schibler // *Curr. Biol.* – 2000. – Vol. 10. – P. 1291–1294.
174. Banerji, T.K. Effects of melatonin on adrenomedullary dopamine- β -hydroxylase activity in Golden hamsters: evidence for pineal and dose dependencies/ T.K. Banerji, W.B. Quay // *Journal of pineal research.* – 1986. – Vol. 3. – P. 397-404.
175. Bass, J. Circadian integration of metabolism and energetics. / J. Bass, J.S. Takahashi // *Science* – 2010. – Vol.330. – P.1349-54.
176. Baydas, G. Daily rhythm of glutathione peroxidase activity, lipid peroxidation and glutathione levels in tissues of pinealectomized rats / G. Baydas, M.F. Gursu, S. Yilmaz [et al.] // *Neurosci Lett.* – 2022. – Vol. 323. – P. 195 – 198.

177. Bedrosian, T. Light at night alters daily patterns of cortisol and clock proteins in female Siberian hamsters. / T. Bedrosian, A. Galan, C. Vaughn [et.al] // *J. Neuroendocrinol.* – 2013. – Vol. 25. – P. 590-596.
178. Bellet, M.M. Mammalian circadian clock and metabolism – the epigenetic link / M.M. Bellet, P. Sassone-Corsi // *J. Cell Sci.* – 2010. – Vol. 123. – P. 3837-3848.
179. Berthier, A. PPARs in Liver Physiology / A. Berthier, M. Johanns, F.P. Zummo, P. Lefebvre, B. Staels // *Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Basis Dis.* – 2021.– Vol.1867. – P.166097. doi:10.1016/j.bbadis.2021.166097
180. Bily, B. Influence of prophylactic melatonin administration on the incidence of early postoperative delirium in cardiac surgery patients/ B. Bily, F. Sabol, P. Török [et.al] // *Anesteziol Intenzivni Med.* – 2015. – Vol. 26. – P.319-27.
181. Blanco, R.A. Diurnal variation in glutathione and cysteine redox states in human plasma / R.A. Blanco, T.R. Ziegler, B.A. Carlson [et al.] // *Am J Clin Nutr.* – 2007. – Vol. 86. – P. 1016–1023.
182. Blask, D.E. Melatonin as a chronobiotic/anticancer agent: cellular, biochemical, and molecular mechanisms of action and their implications for circadian-based cancer therapy / D.E. Blask, L.A. Sauer, R.T. Dauchy // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2002. – Vol. 2, № 2. – P. 113 - 132.
183. Blaustein, M.P. Sodium/calcium exchange: its physiological implications / M.P. Blaustein, W.J. Lederer // *Physiol Rev.* – 1999. – Vol. 79. – P. 763 - 854.
184. Bohus, B. Effects of ACTH-like neuropeptides on animal behavior and man / B. Bohus // *Pharmacology.* – 1979. – Vol.18, №.3. – P. 113 - 122.
185. Bourne, R.S. Melatonin therapy to improve nocturnal sleep in critically ill patients: encouraging results from a small randomised controlled trial/ R.S. Bourne, G.H. Mills, C. Minelli // *Crit Care.* – 2008. – Vol. 12. – R52.
186. Boutina, J.A. Molecular tools to study melatonin pathways and actions / J.A. Boutina [et al.] // *Trends in Pharmacological Sciences.* – 2005. – Vol. 26, № 8. – P. 412 - 419.
187. Braissant, O. Differential expression of Peroxisome Proliferator-Activated Receptors (PPARs): tissue distribution of PPAR- α , - β , and - γ in the adult rat / O. Braissant, F. Fougelle, C. Scotto, M. Dauca, W. Wahli // *Endocrinology.* – 1996. – Vol. 137, №1. – P. 354–366.
188. Bremner, J.D. Hippocampal volume reduction in major depression / J.D. Bremner, M. Narayan, E.R. Anderson [et al.] // *Am J Psychiatry.* – 2000. – Vol. 157. – P. 115 - 118.
189. Brzezinski, A. Mechanisms of Disease: Melatonin in Humans / A. Brzezinski // *The New E.J. of Med.* – 1997. – Vol. 16. – P. 186 - 195.

190. Bubenik, G.A. Gastrointestinal melatonin: localization, function, and clinical relevance / G.A. Bubenik // *Dig. Dis. Sci.* – 2002. – Vol. 47, № 10. – P. 2336–2348.
191. Bunker, M.K. Mop3 is an essential component of the master circadian pacemaker in mammals / M.K. Bunker, L.D. Wilsbacher, S.M. Moran [et al.] // *Cell.* – 2000. – Vol.103. – P.1009-1017.
192. Burgess, H. J. Human phase response curves to three days of daily melatonin: 0.5 mg versus 3.0 mg. / H. J. Burgess, V. L. Revell, T. A. Molina [et al.] // *Endocr. Res.* – 2010. – Vol. 95. – P. 3325-3331. doi: 10.1210/jc.2009-2590
193. Burgess, H.J. A three pulse phase response curve to three milligrams of melatonin in humans / H.J. Burgess, V.L. Revell, C.I. Eastman // *J Physiol.* – 2008. – Vol. 586, № 2. – P.639-47.
194. Busino, L. SCFFbx13 controls the oscillation of the circadian clock by directing the degradation of cryptochrome proteins / L. Busino, F. Bassermann, A. Maiolica [et al.] // *Science.* – 2007. – Vol. 316. – № 900–904.
195. Cambras, T. Social interaction and sex differences influence rat temperature circadian rhythm under LD cycles and constant light. / T. Cambras, L. Castejón, A. Díez-Noguera // *Physiol. Behav.* – 2011. – Vol. 103. – P. 365-371.
196. Canto', C. NAD⁺ metabolism and the control of energy homeostasis: A balancing act between mitochondria and the nucleus / C. Canto', K.J. Menzies, J. Auwerx // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 22. – P. 31–53.
197. Cao, W. Pigment epithelium-derived factor protects cultured retinal neurons against hydrogen peroxide-induced cell death / W. Cao, J. Tombran-Tink, W. Chen [et al.] // *J Neurosci Res.* – 1999. – Vol. 57(6). – P. 789-800.
198. Cardone, L. Circadian clock control by SUMOylation of BMAL1. / L. Cardone, J. Hirayama, F. Giordano, T.Tamaru, J.J. Palvimo, P. Sassone-Corsi, // *Science.* – 2005. – Vol. 309. – P. 1390-1394.
199. Castre'n, E. Role of neurotrophic factors in depression / E. Castre'n, V. Vořikar, T. Rantama'ki // *Curr Opin Pharmacol.* – 2007. – Vol. 7. – P. 18–21.
200. Castre'n, E. The role of BDNF and its receptors in depression and antidepressant drug action: Reactivation of developmental plasticity / E. Castre'n, T. Rantama'ki T // *Dev Neurobiol.* – 2010. – Vol. 70. – P. 289–297.
201. Castre'n, E., Neurotrophic effects of antidepressant drugs / E. Castre'n // *Curr Opin Pharmacol.* – 2004. – Vol. 4. – P. 58–64.
202. Chaanine, A.H. Potential role of BNIP3 in cardiac remodeling, myocardial stiffness, and endoplasmic reticulum: mitochondrial calcium homeostasis in diastolic and systolic heart failure /

A.H. Chaanine, R.E. Gordon, E. Kohlbrenner, [et al]. // *Circ. Heart Fail.* – 2013. – Vol.6. – P. 572-583.

203. Challet, E. Entrainment in calorie-restricted mice: Conflicting zeitgebers and free-running conditions. / E. Challet, L.C. Solberg, F.W. Turek // *Am. J. Physiol.* – 1998. – Vol. 274. – P. R1751- R1761.

204. Challet, E. Reduced glucose availability attenuates circadian responses to light in mice. / E. Challet, S. Losee-Olson, F.W. Turek // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 276. –P. R1063-R1070.

205. Challet, E. Synchronization of the molecular clockwork by light- and food-related cues in mammals. / E. Challet, I. Caldelas, C. Graff, P. Pevet // *Biol. Chem.* – 2003. – Vol. 384. – P. 711-719.

206. Chang, S.W. Circadian rhythm of intracellular protein synthesis signaling in rat cardiac and skeletal muscles. / S.W. Chang, T.Yoshihara, S. Machida, H. Naito, // *Biochem. Biophys. Rep.* – 2017. – Vol. 9. – P. 153-158.

207. Chechi, K. Flax oil-mediated activation of PPAR- γ correlates with reduction of hepatic lipid accumulation in obese spontaneously hypertensive/NDmcr-cp rats, a model of the metabolic syndrome. / K. Chechi, N. Yasui, K. Ikeda, Y. Yamori, S.K. Cheema // *Br. J. Nutr.* – 2010. – Vol. 104. – P. 1313-1321.

208. Chemelli, R.M. Narcolepsy in orexin knockout mice: Molecular genetics of sleep regulation. / R.M. Chemelli, J.T. Willie, C.M. Sinton [et al.] // *Cell.* – 1999. Vol. 98. – P. 437-451.

209. Chen, C.H. Acid-sensing ion channels in neurons of the rat suprachiasmatic nucleus / C.H. Chen, Y.T. Hsu, C.C. Chen [et al] // *J Physiol.* – 2009. – Vol. 587(8). – P. 1727–1737.

210. Chen, L. PPARs Integrate the Mammalian Clock and Energy Metabolism. / Chen L, Yang G.// *PPAR Res.* – 2014. – P. 653017. doi: 10.1155/2014/653017.

211. Chen, Z. Development and Therapeutic Potential of Small-Molecule Modulators of Circadian Systems / Z. Chen, S.H. Yoo, J.S. Takahashi // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2018. – Vol. 58. – P. 231–252.

212. Chen, Z. Identification of diverse modulators of central and peripheral circadian clocks by high-throughput chemical screening / Z. Chen, S.H. Yoo, Y.S. Park [et al.] // *PNAS.* – 2012. – Vol. 109. – P. 101–106.

213. Chen, Z. Small molecule modifiers of circadian clocks / Z. Chen, S.H. Yoo, J.S. Takahashi // *Cell Mol. Life Sci.* – 2013. – Vol. 70. – P. 2985–2998.

214. Cleary-Gaffney, M. C. Limited evidence for affective and diurnal rhythm responses to dim light-at-night in male and female C57Bl/6 mice. / M. Cleary-Gaffney, A.N. Coogan // *Physiol. Behav.* – 2018. – Vol. 189. – P. 78-85.

215. Colwell, C.S. Circadian modulation of calcium levels in cells in the suprachiasmatic nucleus / C.S. Colwell // *Eur J Neurosci.* – 2000. – Vol. 12. – P. 571–576.
216. Copin, J.C. Free radical scavenging systems of rat astroglial cells in primary culture: effects of anoxia and drug treatment / J. C. Copin, M. Ledig, G. Tholey // *Neurochemical Research.* – 1992. – Vol. 17, № 7. – P. 677–682.
217. Cox, K.H. Circadian clock genes and the transcriptional architecture of the clock mechanism. / K.H. Cox, J.S. Takahashi // *J. Mol. Endocrinol.* – 2019. – Vol.63. – P. R93-R102.
218. Dauchy, R.T. Dark-phase light contamination disrupts circadian rhythms in plasma measures of endocrine physiology and metabolism in rats. / R.T. Dauchy, E.M. Dauchy, R.P. Tirrell, [et al.] // *Comp. Med.* – 2010. – Vol. 60. – P. 348-356.
219. Davidson, A.J. Cardiovascular tissues contain independent circadian clocks / A.J. Davidson, B. London, G.D. Block, M. Menaker // *Clin. Exp. Hypertens.* –2005. – Vol. 27. – P. 307-311.
220. Davidson, A.J. Is the foodentrainable oscillator in the digestive system? / A.J. Davidson, A. Poole, S. Yamazaki, M. Menaker // *Genes, Brain Behav.* – 2003. – Vol. 2. – P. 1-8.
221. Davidson, A.J. Visualizing jet lag in the mouse suprachiasmatic nucleus and peripheral circadian timing system. / A.J. Davidson, O. Castanon-Cervantes, T.L. Leise [et al.] // *Eur J Neurosci.* – 2009. – Vol. 29, № 1. – P.171-80. doi: 10.1111/j.1460-9568.2008.06534.
222. Day, A.M. Inactivation of a peroxiredoxin by hydrogen peroxide is critical for thioredoxin-mediated repair of oxidized proteins and cell survival / A.M. Day, J.D. Brown, S.R. Taylor [et al.] // *Mol Cell.* – 2012. – Vol. 4. – № 398–408.
223. DeCoster, M.A. Neuroprotections by pigment epithelial-derived factor against glutamate toxicity in developing primary hippocampal neurons / M.A. DeCoster, E. Schabelman, J. Tombran-Tink [et al.] // *Journal of Neuroscience Research.* – 1999. – Vol. 56, № 6. – P. 604–610.
224. Delezie, J., E. The nuclear receptor REV-ERB α is required for the daily balance of carbohydrate and lipid metabolism / J. Delezie, S. Dumont, H. Dardente, H. [et al.] // *FASEB J.* – 2012. – Vol. 26. – P. 3321-3335.
225. Dergunova, L. Pharmacotranscriptomics of peptide drugs with neuroprotective properties / L. Dergunova, I. Filippenkov, S. Limborska, [et al.] // *Medicinal Research Reviews.* – 2021. – Vol. 41, № 2. –P. 754-769.
226. Dibner, C. The mammalian circadian timing system: organization and coordination of central and peripheral clocks / C. Dibner, U. Schibler, U. Albrecht // *Annu Rev Physiol.* – 2010. – Vol. 72. – P. 517–549.

227. Dmitriev, A.V. Circadian clock regulation of pH in the rabbit retina / A.V. Dmitriev, S.C. Mangel // *J Neurosci.* – 2001. – Vol. 21. – № 2897–2902.
228. Dolotov, O. V. Semax, an analog of ACTH(4–10) with cognitive effects, regulates BDNF and trkB expression in the rat hippocampus / O. V. Dolotov, E. A. Karpenko, L. S. Inozemtseva, [et al.] // *Brain Research.* – 2006a. – Vol. 1117, № 1. – P.54-60.
229. Dolotov, O. V. Semax, an analogue of adrenocorticotropin (4–10), binds specifically and increases levels of brain-derived neurotrophic factor protein in rat basal forebrain / O. V. Dolotov, E. A. Karpenko, T. S. Seredenina, [et al.] / *Journal of Neurochemistry.* – 2006b. – Vol. 97, № s1. – P.82-86. doi.org/10.1111/j.1471-4159.2006.03658.
230. Donato, R. S100: a multigenic family of calcium-modulated proteins of the EF-hand type with intracellular and extracellular functional roles / R. Donato // *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* – 2001. – Vol. 33, № 7. – P. 637–668.
231. Dumas, B.T. Albumin standards and the measurement of serum albumin with bromocresol green / B.T. Dumas, W.A. Watson, H.G. Biggs // *Clin Chim Acta.* – 1971. – Vol. 31. – P. 87-96.
232. Duman, R.S. A neurotrophic model for stress-related mood disorders / R.S. Duman, L.M. Monteggia // *Biol Psychiatry.* – 2006. – Vol. 59. – P. 1116–1127.
233. Dwivedi, Y. Altered gene expression of brain-derived neurotrophic factor and receptor tyrosine kinase B in postmortem brain of suicide subjects / Y. Dwivedi, H.S. Rizavi, R.R. Conley [et al.] // *Arch Gen Psychiatry.* – 2003. – Vol. 60. – P. 804–815.
234. Ebihara, S. Genetic control of melatonin synthesis in the pineal gland of the mouse / S. Ebihara, T. Marks, D.J. Hudson, M. Menaker // *Science.* – 1986. – Vol. 231. – P.491-493.
235. Eckel-Mahan, K. Epigenetic regulation of the molecular clockwork / K. Eckel-Mahan, P. Sassone-Corsi // *Prog. Mol. Biol. Transl. Sci.* – 2013. – Vol. 119. – P. 29–50.
236. Edgar, RS. Peroxiredoxins are conserved markers of circadian rhythms / R.S. Edgar, E.W. Green, Y. Zhao, O.G. Van, [et al.] // *Nature.* – 2012. – Vol. 485. P. 459-464.
237. Edwards, B.J. Use of melatonin in recovery from jet-lag following an eastward flight across 10 timezones / B.J. Edwards, G. Atkinson, J. Waterhouse, T. Reilly, [et al] // *Ergonomics.* – 2000. – Vol. 43. – P.1501-13.
238. Ellman, G.L. Tissue sulfhydryl groups / G.L. Ellman // *Archives of Biochemistry and Biophysics.* – 1959. – Vol. 82, № 1. – P. 70–77.
239. Fabiny, D.L. Automated reaction-rate method for determination of serum creatinine with Centrifichem / D.L. Fabiny, G. Ertingshausen // *Clin Chem.* – 1971. – Vol. 17. – P. 696-700.

240. Falchi, F. The new world atlas of artificial night sky brightness / F. Falchi, P. Cinzano, D. Duriscoe [et al.] // *Sci. Adv.* – 2016. – Vol. 2. – P. e1600377.
241. Farooqui, M.Y. Circadian periodicity of tissue glutathione and its relationship with lipid peroxidation in rats / M.Y. Farooqui, A.E. Ahmed // *Life Sci.* – 1984. – Vol. 34. – P. 2413–2418.
242. Farrow, S.N. The importance of chronobiology to drug discovery / S.N. Farrow, R. Solari, T.M. Willson // *Expert Opinion on Drug Discovery.* – 2012. – Vol. 7. – P. 535–541.
243. Feeney, K.A. Daily magnesium fluxes regulate cellular timekeeping and energy balance / K.A. Feeney, L.L. Hansen, M. Putker [et al.] // *Nature.* – 2016. – Vol. 532. – P. 375–379.
244. Ferreira, M.A. Jr, Discovery of ACH-000143: A Novel Potent and Peripherally Preferred Melatonin Receptor Agonist that Reduces Liver Triglycerides and Steatosis in Diet-Induced Obese / M.A. Jr Ferreira, H. Azevedo, A. Mascarello [et al.] // *Rats. J Med Chem.* – 2021. – Vol. 64, № 4. – P.1904-1929. doi: 10.1021/acs.jmedchem.0c00627.
245. Figueiro M.G. A train of blue light pulses delivered through closed eyelids suppresses melatonin and phase shifts the human circadian system / M.G. Figueiro, M.S. Bierman M.S., M.S. Rea // *Nat.Sci Sleep.* – 2013. – Vol. 5. – P. 133-141.
246. Fonken, L.K. Dim nighttime light impairs cognition and provokes depressive-like responses in a diurnal rodent / L.K. Fonken, E. Kitsmiller, L. Smale [et al.] // *J. Biol. Rhythm.* – 2012. – Vol. 27. – P. 319-327.
247. Fonken, L.K. Light at night increases body mass by shifting the time of food intake / L.K. Fonken, J.L. Workman, J.C. Walton [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2010. – Vol. 107. – P. 18664-18669.
248. Fontaine, C. The orphan nuclear receptor Rev-Erb α is a Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) γ target gene and promotes PPAR γ -induced adipocyte differentiation / C. Fontaine, G. Dubois, Y. Duguay [et al.] // *Journal of Biological Chemistry.* – 2003. – Vol. 278, № 39. – P. 37672–37680.
249. Fu, L. The circadian clock: pacemaker and tumour suppressor / L. Fu, C.C. Lee // *Nat. Rev. Cancer.* – 2003. – Vol. 3. – P. 350–361.
250. Fulco, M. Glucose restriction inhibits skeletal myoblast differentiation by activating SIRT1 through AMPK-mediated regulation of Nampt. / M. Fulco, Y. Cen, P. Zhao [et al.] // *Dev. Cell.* – 2008. – Vol. 14. – P. 661-673.
251. Gaetani, S. Modulation of Meal Pattern in the Rat by the Anorexic Lipid Mediator Oleoylethanolamide / S. Gaetani, F. Oveisi, D. Piomelli // *Neuropsychopharmacology.* – 2003. – Vol. 28. – P. 1311-1316.

252. Gall von, C. Mammalian melatonin receptors: molecular biology and signal transduction / C. von Gall, J. Stehle, D. R. Weaver // *Cell Tissue Res.* – 2002. – Vol. 309, № 1. – P. 151–162.
253. Gallego, M. Post-translational modifications regulate the ticking of the circadian clock / M. Gallego, D.M. Virshup // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2007. – Vol. 8. – P. 139–148.
254. Gandhi, A.V. Melatonin is required for the circadian regulation of sleep / A.V. Gandhi, E.A. Mosser, G. Oikonomou, D.A. Prober // *Neuron.* – 2015. – Vol. 85. – P. 1193-9.
255. Garfinkel, D. Improvement of sleep quality in elderly people by controlled-release melatonin / D. Garfinkel, M. Laudon, D. Nof, N. Zisapel // *Lancet.* – 1995. – Vol. 346. – P.541-544.
256. Ghosh, A. Oscillations of glycolytic intermediates in yeast cells / A. Ghosh, B. Chance // *Biochem Biophys Res Commun.* – 1964. – Vol. 16. – P.174-181.
257. Gibbs, J.E. The nuclear receptor REV-ERB α mediates circadian regulation of innate immunity through selective regulation of inflammatory cytokines / J.E. Gibbs, J. Blaikley, S. Beesley [et al.] // *PNAS.* – 2012. – Vol. 109. – P. 582–587.
258. Gill, S. Smartphone app reveals erratic diurnal eating patterns in humans that can be modulated for health benefits / S. Gill, S. A. Panda // *Cell Metab.* – 2015. – Vol. 22. – P. 789-798.
259. Gill, S. Time-restricted feeding attenuates age-related cardiac decline in *Drosophila* / S. Gill, H.D. Le, G.C. Melkani, S. Panda // *Science.* – 2015. – Vol. 347. – P. 1265-1269.
260. Gilles-Gonzalez, M.A. Signal transduction by heme-containing PAS-domain proteins / M.A. Gilles-Gonzalez, G. Gonzalez // *J. Appl. Physiol.* – 2004. – Vol. 96. – P. 774–783.
261. Gillette, M.U. Signaling in the suprachiasmatic nucleus-selectively responsive and integrative / M.U. Gillett, J.W. Mitchell // *Cell Tissue Res.* – 2002. – Vol. 309. – P. 99 –107.
262. Glitsch, H.G. Electrophysiology of the sodium-potassium-ATPase in cardiac cells / H.G. Glitsch // *Physiol Rev.* – 2001. – Vol. 81. – P. 1791–1826.
263. Godinho, S.I.H. The after-hours mutant reveals a role for Fbx13 in determining mammalian circadian period / S.I.H. Godinho, E.S. Maywood, L. Shaw [et al.] // *Science.* – 2007. – Vol. 316. – P. 897– 900.
264. Gomes, A.P. Declining NAD⁺ Induces a Pseudohypoxic State Disrupting Nuclear-Mitochondrial Communication during Aging / A. P. Gomes, N. L. Price, A. J.Y. Ling, [et al.] // *Cell.* – 2013. – Vol. 155, Iss. 7. – P. 1624-1638.
265. Gómez-Boronat, M. Time-lag in Feeding Schedule Acts as a Stressor that Alters Circadian Oscillators in Goldfish / M. Gómez-Boronat, N. Sáiz, M. J. Delgado [et al.] // *Front. Physiol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 1749. doi:10.3389/fphys.2018. 01749

266. Gonzalez, M. Dim light at night and constant darkness: Two frequently used lighting conditions that jeopardize the health and well-being of laboratory rodents / M. Gonzalez // *Front. Neurol.* – 2018. – Vol. 9. – P. 609
267. Gornall, A.G., Determination of serum proteins by means of the Biuret reaction / A.G. Gornall, C.S. Bardawill, M.M. David // *J Biol Chem.* – 1949. – Vol. 177. – P. 751-766.
268. Goto, K. Biochemical modeling of an autonomously oscillatory circadian clock in *Euglena* / K. Goto, D.L. Laval-Marti, L.N. Edmunds // *Science.* – 1985. – Vol. 228. – P. 1284–1288.
269. Grant, D. GSK4112, a small molecule chemical probe for the cell biology of the nuclear heme receptor Rev-erba / D. Grant, L. Yin, J.L. Collins [et al.] // *ACS Chem. Biol.* – 2010. – Vol. 5 – P. 925–932.
270. Gray, K. Activation of pro-BDNF by the pericellular serine protease plasmin / K. Gray, V. Ellis // *FEBS Lett.* – 2008. – Vol. 582. – P. 907-910.
271. Grigor'ev, N.R. Experimental research model for the search of activity and cognitive abilities in rats / N.R. Grigor'ev, G.E. Cherbikova // *Intern. J. Psychophysiology.* – 2008. – Vol. 69, № 3. – P. 250.
272. Grigor'ev, N.R. Typological Features in the Behavior of Rats / N.R. Grigor'ev, T.A. Batalova, E.F. Kirichenko [et al.] // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2008. – Vol. 38, № 6. – P. 597–603.
273. Gritton, H. J. Interactions between cognition and circadian rhythms: Attentional demands modify circadian entrainment / H. J. Gritton, B. C. Sutton, V. Martinez, [et al] // *Behavioral Neuroscience.* – 2009. – Vol. 123, № 5. – P. 937- 948.
274. Grubisic, M. Light pollution, circadian photoreception, and melatonin in vertebrates / M. Grubisic, A. Haim, P. Bhusal [et al.] // *Sustainability.* – 2019. – Vol. 11. – P. 6400.
275. Guan, Y. Peroxisome proliferator-activated receptor family and its relationship to renal complications of the metabolic syndrome / Y. Guan // *Journal of the American Society of Nephrology.* – 2004. – Vol. 15, №. 11. – P. 2801–2815.
276. Guardiola-Lemaitre, B. Toxicology of melatonin / B. Guardiola-Lemaitre // *J. Biol. Rhythms.* – 1997. – Vol. 12, № 6. – P. 697-706.
277. Gutmann, I. *Methods of enzymatic Analysis* / I. Gutmann, H.U. Bergmeyer. – New-York: Academic Press, 1974. – 1064 p.
278. Habas, J. Hahn. Neuronal activity regulates astrocytic Nrf2 signaling / J. Hahn Habas, X. Wang, M. Margeta // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2013. – Vol. 110. – P. 18291-18296.

279. Haber, R.S. Ionic dependence of active Na-K transport: “clamping” of cellular Na with monensin / R.S. Haber, T.A. Pressley, J.N. Loeb [et al.] // *Am J Physiol Renal Fluid Electrolyte Physiol.* – 1987. – Vol. 253. – P. 26–33.
280. Habig, W.H. Assay for differentiation of glutathione S-transferases / W.H. Habig // *Methods in Enzymology.* – 1981. – Vol. 77. – P. 398-405.
281. Halberg, F. Workshop on Computer Methods on Chronobiology and Chronomedicine. 20 Int. Congr. / F. Halberg, H. Watanabe. – Neurovegetative Research. Tokyo, – 1990. Tokyo: Medical Review; – 297 p.
282. Han, B.N. BDNF protects the neonatal brain from hypoxic-ischemic injury in vivo via the ERK pathway / B.N. Han, D.M. Holtzman // *J Neurosci* – 2000. – Vol. 20(15). – P. 5775-5781.
283. Hara, J. Genetic ablation of orexin neurons in mice results in narcolepsy, hypophagia, and obesity / C.T. Beuckmann, T. Nambu, J.T. Willie [et al.] // *Neuron.* – 2001. – Vol. 30. – P. 345-354.
284. Hara, R. Restricted feeding entrains liver clock without participation of the suprachiasmatic nucleus / R. Hara, K. Wan, H. Wakamatsu [et al.] // *Genes Cells.* – 2001. – Vol. 6. P. 269-278.
285. Hardeland, R. Chronobiology of melatonin beyond the feedback to the suprachiasmatic nucleus – Consequences to melatonin dysfunction / R. Hardeland // *Int J Mol Sci.* – 2013. – Vol. 14. – P. 5817–5841.
286. Hardeland, R. Circadian rhythms, oxidative stress, and antioxidative defense mechanisms / R. Hardeland, A. Coto-Montes, B. Poeggeler // *Chronobiol Int.* – 2003. – Vol. 20. – P. 921–962.
287. Hardeland, R. Melatonin, a potent agent in antioxidative defense: Actions as a natural food constituent, gastrointestinal factor, drug and prodrug / R. Hardeland, S.R. Pandi-Perumal // *Nutr Metab.* – 2005. – Vol. 2. – P. 22.
288. Harris, G.C. A role for lateral hypothalamic orexin neurons in reward seeking / G.C. Harris, M. Wimmer, G. Aston-Jones // *Nature.* – 2005. – Vol. 437. – P. 556-559.
289. Hatori, M. Time-restricted feeding without reducing caloric intake prevents metabolic diseases in mice fed a high-fat diet / M. Hatori, C. Vollmers, A. Zarrinpar [et al.] // *Cell Metab.* – 2012. – Vol. 15. – P. 848-860.
290. Haus, E. Biological clocks and shift work: circadian dysregulation and potential long-term effects / E. Haus, M. Smolensky // *Cancer Causes Control.* – 2006. – Vol. 17. – P. 489-500.
291. He, B. Molecular targets for small-molecule modulators of circadian clocks / B. He, Z. Chen // *Curr. Drug Metab.* – 2016. – Vol. 17. – P. 503–512.

292. Herring, W.J. Orexin receptor antagonism for treatment of insomnia: a randomized clinical trial of suvorexant / W.J. Herring, E. Snyder, K. Budd [et al.] // *Neurology*. – 2012. – Vol. 79, №22. – P. 65-74.
293. Herxheimer, A. Melatonin for the prevention and treatment of jet lag. / A. Herxheimer, K.J. Petrie // *Cochrane Database Syst Rev*. – 2001. – Vol. 1. – P. CD001520.
294. Hirano, A. FBXL21 regulates oscillation of the circadian clock through ubiquitination and stabilization of cryptochromes / A. Hirano, K. Yumimoto, R. Tsunematsu [et al.] // *Cell*. – 2013. – Vol. 152. – P. 1106–1118.
295. Hirota, T. A chemical biology approach reveals period shortening of the mammalian circadian clock by specific inhibition of GSK-3 β / T. Hirota, W.G. Lewis, A.C. Liu [et al.] // *PNAS*. – 2018. – Vol. 105. – P. 20746–20751.
296. Hirota, T. Glucose down-regulates Per1 and Per2 mRNA levels and induces circadian gene expression in cultured Rat-1 fibroblasts / T. Hirota, T. Okano, K. Kokame [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2002. – Vol. 277. – P. 44244-44251.
297. Hirota, T. Identification of small molecule activators of cryptochrome / T. Hirota, W. LeeJ, P.C. StJohn [et al.] // *Science*. – 2012. – Vol. 337. – P. 1094–1097.
298. Ho, J.M. Acute sleep disruption- and high-fat diet-induced hypothalamic inflammation are not related to glucose tolerance in mice / J.M. Ho, N.H. Ducich, N.K. Nguyen, M.R Opp // *Neurobiol Sleep Circadian Rhythms*. – 2018. – Vol. 4. – P. 1-9.
299. Ho, T. C. Pigment epithelium-derived factor protects retinal pigment epithelium from oxidant-mediated barrier dysfunction / T. C. Ho, Y. C. Yang, H. C. Cheng // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2006. – Vol. 342, № 2. – P. 372–378.
300. Hoffman, J.F. On the functional use of the membrane compartmentalized pool of ATP by the Na and Ca pumps in human red blood cell ghosts / J.F. Hoffman, A. Dodson, F. Proverbio // *J Gen Physiol*. – 2009. – Vol. 134. – P. 351–361.
301. Hogenesch, J.B. Intracellular and intercellular processes determine robustness of the circadian clock / J.B. Hogenesch, E.D. Herzog // *FEBS Lett*. – 2011. – Vol. 585. – P. 1427–1434.
302. Horst van der G.T. Mammalian Cry1 and Cry2 are essential for maintenance of circadian rhythms / G.T. van der Horst, M. Muijtjens, K. Kobayashi, [et al.] // *Nature*. – 1999. – Vol.398. – P.627-630.
303. Houtkooper, R.H. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan / R.H. Houtkooper, E. Pirinen, J. Auwerx // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. – 2012. – Vol. 13. – P. 225-238.

304. Hu, J. Glial derived proteins activate cultured astrocytes and enhance β -amyloid-induced astrocyte activation / J. Hu, L. J. Van Eldik // *Brain Research*. – 1999. – Vol. 842, № 1. – P. 46–54.
305. Huang, G. Circadian oscillations of NADH redox state using heterologous metabolic sensor in mammalian cells / G. Huang, Y. Zhang, Y. Shan [et al.] // *J Biol Chem*. – 2016. – Vol. 291. – P. 23906–23914.
306. Huber, R. Local sleep and learning / R. Huber, M.F. Ghilardi, M. Massimini, G. Tononi // *Nature* – 2004. – Vol. 430. – P. 78-81.
307. Hudson, C.C. Regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha expression and function by the mammalian target of rapamycin / C.C. Hudson, M. Liu, G.G. Chiang [et al.] // *Mol. Cell Biol*. – 2002. – Vol. 22. – P. 7004-7014.
308. Ianaș, O. Melatonin involvement in oxidative processes / O. Ianaș, R. Olinescu, I. Bașdescu // *Endocrinologie*. – 1991. – Vol. 29. – P. 147–153.
309. Ibrahim, M.G. A double-blind placebo-controlled randomised pilot study of nocturnal melatonin in tracheostomised patients. / M.G. Ibrahim, R. Bellomo, G.K Hart, [et al.] // *Crit Care Resusc*. – 2006. – Vol.8. – P.187-91.
310. Ikeda, Y. Feeding and Adrenal Entrainment Stimuli Are Both Necessary for normal Circadian Oscillation of Peripheral Clocks in Mice Housed under Different Photoperiods. / Y. Ikeda, H. Sasaki, T. Ohtsu [et al.] // *Chronobiology Int*. – 2015. – Vol. 32. – P. 195-210.
311. Ingebrigtsen, T. Biochemical serum markers of traumatic brain injury. / T. Ingebrigtsen, B. Romner // *The Journal of Trauma*. – 2002. – Vol. 52, № 4. – P. 798–808.
312. Inoue, I. CLOCK/BMAL1 is involved in lipid metabolism via transactivation of the Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) response element / I. Inoue, Y. Shinoda, M. Ikeda [et al.] // *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. – 2005. – Vol. 12, №3. – P. 169–174.
313. Ishii, T. Circadian control of p75 neurotrophin receptor leads to alternate activation of Nrf2 and c-Rel to reset energy metabolism in astrocytes via brain-derived neurotrophic factor / T. Ishii, E. Warabi, G.E. Mann // *Free Radic. Biol Med*.. – 2018. – Vol. 119. – P. 34-44.
314. Ishii, T. Redox status in mammalian cells and stem cells during culture in vitro: critical roles of Nrf2 and cystine transporter activity in the maintenance of redox balance / T. Ishii, G.E. Mann // *Redox Biol*. – 2014. – Vol. 2. – P. 786-794.
315. Ishii, T. Transcription factor Nrf2 coordinately regulates a group of oxidative stress-inducible genes in macrophages / T.T. Ishii, K. Itoh, S. Takahashi [et al.] // *J. Biol. Chem*. – 2002. – Vol. 275. – P. 16023-16029.

316. Isojima, Y. CKI ϵ/δ -dependent phosphorylation is a temperature-insensitive, period-determining process in the mammalian circadian clock / Y. Isojima, M. Nakajima, H. Ukai [et al.] // PNAS. – 2009. – Vol. 106. – P. 15744–15749.
317. Isorna, E. Interplay between the Endocrine and Circadian Systems in Fishes / E. Isorna, N. de Pedro, A. I. Valenciano [et al.] // Endocrinol. – 2017. – Vol. 232. – R141–R159. doi:10.1530/JOE-16-0330
318. Itoh, K. An Nrf2/small Maf heterodimer mediates the induction of phase II detoxifying enzyme genes through antioxidant response elements / K. Itoh, T. Chiba, S. Takahashi [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1997. – Vol. 236. – P. 313–322.
319. Iwanaga, H. Per2 gene expressions in the suprachiasmatic nucleus and liver differentially respond to nutrition factors in rats / H. Iwanaga, M. Yano, H. Miki [et al.] // JPEN J. Parenter. Enteral. Nutr. – 2005. – Vol. 29. – P. 157–161.
320. Jeong, K. Dual attenuation of proteasomal and autophagic BMAL1 degradation in Clock $\Delta 19/+$ mice contributes to improved glucose homeostasis / K. Jeong, B. He, K. Nohara [et al.] // Sci. Rep. – 2015. – Vol. 5. – P. 5–15.
321. Jones, K.A. Small-molecule antagonists of melanopsin-mediated phototransduction / K.A. Jones, M. Hatori, L.S. Mure // Nat. Chem. Biol. – 2013. – Vol. 9. – P. 630–635.
322. Kalsbeek, A. Circadian control of glucose metabolism. / A. Kalsbeek, S. la Fleur, E. Fliers // Mol. Metab. – 2014. – Vol. 3. – P. 372–383.
323. Kang, S.W. Characterization of a mammalian peroxiredoxin that contains one conserved cysteine / S.W. Kang, I.C. Baines, S.G. Rhee // J Biol Chem. – 1998. – Vol. 273. – P. 6303–6311.
324. Kärkelä, J. CSF and serum brain-specific creatine kinase isoenzyme (CK-BB), neuron-specific enolase (NSE) and neural cell adhesion molecule (NCAM) as prognostic markers for hypoxic brain injury after cardiac arrest in man / J. Kärkelä, E. Bock, S. Kaukinen // Journal of the neurological sciences. – 1993. – Vol. 116, № 1. – P. 100–109.
325. Kato, K. Neurochemical properties of ramelteon (TAK-375), a selective MT1/MT2 receptor agonist / K. Kato, K. Hirai, K. Nishiyama [et al.] // Neuropharmacology. – 2005. – Vol. 48, № 2. – P. 301–310.
326. Khavinson, V.Kh. Peptides and ageing / V.Kh. Khavinson. – Neuroendocrinol. Let. – 2002. – Vol. 23, Suppl. 3, special Issue. – 144 p.
327. Kim, J.E. Regulation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activity by mammalian target of rapamycin and amino acids in adipogenesis / J.E. Kim, J. Chen // Diabetes. – 2004. – Vol. 53. – P. 2748–2756.

328. King, D.P. Positional cloning of the mouse circadian clock gene / D.P. King, Y. Zhao, A.M. Sangoram, [et al.] // *Cell*. – 1997. – Vol.89. – P.641-653.
329. Kita, Y. Implications of circadian gene expression in kidney, liver and the effects of fasting on pharmacogenomic studies. / Y. Kita, M. Shiozawa, W. Jin, R.R. Majewski, J.C. Besharse, A.S. Greene, H.J. Jacob // *Pharmacogenetics*. – 2002. – Vol. 12. – P. 55-65.
330. Ko, C.H. Emergence of noise-induced oscillations in the central circadian pacemaker / C.H. Ko, Y.R. Yamada, D.K. Welsh DK [et al.] // *PLOS Biol.* – 2010. – Vol. 8. – P. 1-19.
331. Ko, G.Y.P. Circadian regulation of ion channel and their functions / G.Y.P. Ko, L. Shi, M.L. Ko, // 2009 *Journal of Neurochemistry*. – Vol. 110. – P. 1150-1169.
332. Kohsaka, A. High-fat diet disrupts behavioral and molecular circadian rhythms in mice / A. Kohsaka, A.D. Laposky, K.M. Ramsey [et al.] // *Cell Metab.* – 2007. – Vol. 6. – P. 414-421.
333. Koike, N. Transcriptional architecture and chromatin landscape of the core circadian clock in mammals / N. Koike, S.H. Yoo, H.C. Huang [et al.] // *Science*. – 2012. – Vol. 338. – P. 349–354.
334. Kojetin, D.J. REV-ERB and ROR nuclear receptors as drug targets / D.J. Kojetin, T.P. Burris // *Nat. Rev. Drug Discov.* – 2014. – Vol. 13. – P. 197–216.
335. Kojima, S. Post-transcriptional control of circadian rhythms / S. Kojima, D.L. Shingle, C.B. Green // *J. Cell Sci.* – 2011. – Vol. 124. – P. 311–202.
336. Komatsubara, M. Melatonin regulates catecholamine biosynthesis by modulating bone morphogenetic protein and glucocorticoid actions / M. Komatsubara, H. Takayuki, H. Takeshi [et al.] // *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. – 2017. – Vol. 165, Part B. – P. 182-189.
337. Kon, N. Activation of TGF- β / activin signalling resets the circadian clock through rapid induction of *Dec1* transcripts / N. Kon, T. Hirota, T. Kawamoto [et al.] // *Nat. Cell Biol.* – 2018. – Vol. 10. – P. 1463–1469.
338. Kondo, T. Circadian rhythms in rapidly dividing cyanobacteria / T. Kondo, T. Mori, N.V. Lebedeva [et al.] // *Science*. – 1997. – Vol. 275. – P. 224 –227.
339. Kondratov, R.V. Early Aging and Age-Related Pathologies in Mice Deficient in *BMAL1*, the Core Component of the Circadian Clock. / R.V. Kondratov, A.A. Kondratova, V.Y. Gorbacheva [et al.] // *Genes Dev.* – 2006. – Vol.20. – P. 1868-1873. doi:10.1101/gad.1432206
340. Kondratova, A.A. The circadian clock and pathology of the ageing brain / A.A. Kondratova, R.V. Kondratov // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2012. – Vol. 13. – P. 325–352.
341. Kornmann, B. System-driven and Oscillator-dependent Circadian Transcription in Mice with a Conditionally Active Liver Clock. / B. Kornmann, O. Schaad, H. Bujard [et al.] // *Plos Biol.* – 2007. – Vol.5. – P. e34. doi:10.1371/journal.pbio.0050034

342. Kraft, A.D. Nuclear factor E2-related factor 2-dependent antioxidant response element activation by tert-butylhydroquinone and sulforaphane occurring preferentially in astrocytes conditions neurons against oxidative insult / A.D. Kraft, D.A. Johnson, J.A. Johnson // *J Neurosci.* – 2004. – Vol. 24 – P.1101-1112.
343. Krauchi, K. The hypothermic effect of late evening melatonin does not block the phase delay induced by concurrent bright light in human subjects / K. Krauchi, C. Cajochen, K.V. Danilenko, A. Wirz-Justice // *Neurosci Lett.* – 1997. – Vol. 232. – P. 57-61.
344. Krueger, J.M. Sleep function. / J.M. Krueger, F. Obal // Jr. *Front Biosci.* – 2003. – Vol.8. –P.d511-9.
345. Kuczewski, N. Back-propagating action potential: A key contributor in activity-dependent dendritic release of BDNF / N. Kuczewski, C. Porcher, V. Lessmann [et al.] // *Commun. Integr. Biol.* – 2008. – Vol. 1. – P. 153-155.
346. Kuhlman, S.J. Encoding the ins and outs of circadian pacemaking / S.J. Kuhlman, D.G. McMahan // *J Biol Rhythms.* – 2006. – Vol. 21, (6). – P.470-81. doi: 10.1177/0748730406294316.
347. Kuramoto, T. Origins of albino and hooded rats: implications from molecular genetic analysis across modern laboratory rat strains. / T. Kuramoto, S. Nakanishi, M. Ochiai, H. Nakagama, B. Voigt, T. Serikawa // *PLoS One.* – 2012. – Vol. 7(8). – P.e43059.
348. Lai, A.G. Circadian clock-associated 1 regulates ROS homeostasis and oxidative stress responses / A.G. Lai, C.J. Doherty, B. Mueller-Roeber [et al.] // *Proc Natl Acad Sci.* – 2012. – Vol. 109. – P. 17129–17134.
349. Lakin-Thomas, P.L. Transcriptional feedback oscillators: Maybe, maybe not... / P.L. Lakin-Thomas // *J Biol Rhythms.* – 2006. – Vol. 21. – P. 83–92.
350. Lamia, K.A. AMPK regulates the circadian clock by cryptochrome phosphorylation and degradation. / U.M. Sachdeva, L. DiTacchio, E.C. Williams [et al.] // *Science.* – 2009. – Vol. 326. – P. 437-440.
351. Lamia, K.A. Regulates the Circadian Clock by Cryptochrome Phosphorylation and Degradation. / K.A. Lamia, U.M. Sachdeva, L. DiTacchio [et al.] // *Science.* – 2009. – Vol.326. – P. 437-440. doi:10.1126/science.1172156
352. Le Minh, N. Glucocorticoid hormones inhibit food-induced phase-shifting of peripheral circadian oscillators / N. Le Minh, F. Damiola, F. Tronche [et al.] // *EMBO J.* – 2001. – Vol. 20. – P. 7128-7136.
353. Lee, H. Essential roles of CKI δ and CKI ϵ in the mammalian circadian clock / H. Lee, R. Chen, Y. Lee [et al.] // *PNAS.* – 2009. – Vol. 106. – P. 21359-21364.

354. Leise, T. Dynamics of a Multistage Circadian System. / T. Leise, H. Siegelmann // *Journal of Biological Rhythms*. – 2006. – Vol. 21(4). – P.314-323. doi:10.1177/0748730406287281
355. Leproult, R. Phase-shifts of 24-h rhythms of hormonal release and body temperature following early evening administration of the melatonin agonist agomelatine in healthy older men / R. Leproult, A. Van Onderbergen, M. L'hermiteBaleriaux, [et al.] // *Clin Endocrinol (Oxf)*. – 2005. – Vol. 63. – P. 298-304.
356. Levi, F. Circadian rhythms: mechanisms and therapeutic implications / F. Levi, U. Schibler // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2007. – Vol. 47. – P. 593–628.
357. Lin, L. The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene. / L. Lin, J. Faraco, R. Li [et al.] // *Cell*. – 1999. – Vol. 98. – P. 365-376.
358. Lin, S.J. Requirement of NAD and SIR2 for life-span extension by calorie restriction in *Saccharomyces cerevisiae* / S.J. Lin, P.A. Defossez, L. Guarente // *Science*. – 2000. – Vol 289. – P. 2126-2128.
359. Liu, A.C. Intercellular coupling confers robustness against mutations in the SCN circadian clock network / A.C. Liu, D.K. Welsh, C.H. Ko [et al.] // *Cell*. – 2007. – Vol. 129. – P. 605–616.
360. Longo, V.D. Fasting, circadian rhythms, and time-restricted feeding in healthy lifespan. / V.D. Longo, S. Panda // *Cell Metab*. – 2016. – Vol. 23. – P. 1048-1059.
361. Lowrey, P.L. Mammalian circadian biology: elucidating genome-wide levels of temporal organization. / P.L. Lowrey, J.S. Takahashi // *Annu. Rev. Genom. Hum. Genet.* – 2004. – Vol. 5. – P.407-441.
362. Lowrey, P.L. Positional syntenic cloning and functional characterization of the mammalian circadian mutation tau. / P.L. Lowrey, K. Shimomura, M.P. Antoch [et al.] // *Science*. – 2000. – Vol.288. – P. 483-492.
363. Lu, W. A circadian clock is not required in an arctic mammal / W. Lu, Q.J. Meng, N.J. Tyler, K.A. Stokkan, A.S. Loudon // *Curr Biol*. – 2010. – Vol. 20(6). – P.533-537. doi: 10.1016/j.cub.2010.01.042.
364. Luchetti, F. Melatonin signaling and cell protection function / F. Luchetti, B. Canonico, M. Betti [et al.] // *FASEB J*. – 2010. – Vol. 24. – P. 3603–3624.
365. Makwana, K. Calorie restriction reprograms diurnal rhythms in protein translation to regulate metabolism. / K. Makwana, N. Gosai, A. Poe, R.V. Kondratov // *FASEB J*. – 2019. – Vol. 33. – P. 4473-4489.

366. Mandard, S. Glycogen synthase 2 is a novel target gene of peroxisome proliferator-activated receptors. / R. Stienstra, P. Escher, N.S. Tan [et al.] // *Cell Mol. Life Sci.* – 2007. – Vol. 64. – P. 1145-1157.
367. Mann, G.E. Introduction to Special Issue on ‘Nrf2 regulated redox signaling and metabolism in physiology and medicine’ / G.E. Mann, H.J. Forman // *Free Radic. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 88. – P. 91-92.
368. Maroni, M.J. Constant light alters serum hormone levels related to thyroid function in male CD-1 mice. / M.J. Maroni, K.M. Capri, A.V. Cushman [et al.] // *Chronobiol. Int.* – 2018. – Vol. 35. – P. 1456-1463.
369. Marpegan, L. Circadian regulation of ATP release in astrocytes / L. Marpegan, A.E. Swannstrom, K. Chung [et al.] // *J Neurosci.* – 2011. – Vol. 31. – P. 8342–8350.
370. Matsuoka, H. Phosphoenolpyruvate carboxykinase, a key enzyme that controls blood glucose, is a target of retinoic acid receptor-related orphan receptor alpha. / H. Matsuoka, A. Shima, D. Kuramoto [et al.] // *PLoS ONE.* – 2015. – Vol. 10. – P. e0137955.
371. McDearmon, E.L. Dissecting the functions of the mammalian clock protein BMAL1 by tissue-specific rescue in mice. / E.L. McDearmon, K.N. Patel, C.H. Ko, J.A. Walisser, [et al.] // *Science.* – 2006. – Vol. 314. P.1304-1308/
372. McEwen, B.S. Glucocorticoids, depression, and mood disorders: structural remodeling in the brain / B.S. McEwen // *Metabolism.* – 2005. – Vol. 54. – P. 20–23.
373. McHill, A.W. Impact of circadian misalignment on energy metabolism during simulated nightshift work. / A.W. McHill, E.L. Melanson, J. Higgins [et al.] // *Jr. Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2014. – Vol. 111. – P. 17302-17307.
374. McIntosh, B.E. Mammalian Per-Arnt-Sim proteins in environmental adaptation / B.E. McIntosh, J.B. Hogenesch, C.A. Bradfield // *Physiol.Rev.* – 2010. – Vol. 72. – P. 625-645.
375. Mehr, J.B. Orexin (hypocretin) and addiction. / J.B. Mehr, M.M. Bilotti, M.H. James // *Trends Neurosci.* – 2021. – Vol. 44. – P. 852-855.
376. Mendoza, J. Daily meal timing is not necessary for resetting the main circadian clock by calorie restriction. / J. Mendoza, K. Drevet, P. Pevet, E. Challet // *J. Neuroendocrinol.* – 2008. – Vol. 20. – P. 251-260.
377. Mendoza, J. Feeding cues alter clock gene oscillations and photic responses in the suprachiasmatic nuclei of mice exposed to a light/dark cycle. / J. Mendoza, C. Graff, H. Dardente, P. Pevet, E. Challet // *J. Neurosci.* – 2005. – Vol. 25. – P. 1514-1522.

378. Meng, Q.J. Ligand modulation of REVERB α function resets the peripheral circadian clock in a phasic manner / Q.J. Meng, A. McMaster, S. Beesley [et al.] // *J. Cell Sci.* – 2008. – Vol. 121. – P. 3629–3635.
379. Messina, A. Role of the orexin system on arousal, attention, feeding behaviour and sleep disorders. / A. Messina, V. Monda, R. Avola, Moscatelli, [et. al.] // *Acta Med.* – 2017. – Vol. 33. – P. 635.
380. Milev, N.B. Cellular Timekeeping: It's Redox o'Clock / N.B. Milev, R. Sue-Goo, A.B. Reddy // *Cold Spring Harb Perspect Biol.* – 2018. - Vol. 10. – P. 1-31.
381. Milev, N.B. Circadian redox oscillations and metabolism / N.B. Milev, A.B. Reddy // *Trends Endocrinol Metab.* – 2015. – Vol. 26, № 8. – P. 430-437.
382. Millan, M.J. The novel melatonin agonist agomelatine (S20098) is an antagonist at 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors, blockade of which enhances the activity of frontocortical dopaminergic and adrenergic pathways / M.J. Millan, A. Gobert, F. Lejeune, [et al] // *J Pharmacol Exp Ther.* – 2003. – Vol. 306, № 3. – P.954-64.
383. Millius, A. Systems biology-derived discoveries of intrinsic clocks / A. Millius, H.R. Ueda // *Front. Neurol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1-19.
384. Miranda, J. Effects of resveratrol on changes induced by high-fat feeding on clock genes in rats. / J. Miranda, M.P. Portillo, J.A. Madrid, N. Arias, M.T. Macarulla, M. Garaulet // *Br. J. Nutr.* – 2013. – Vol. 110. – P. 1421-1428.
385. Mitra, M.S. Development of peptide therapeutics: A nonclinical safety assessment perspective / M.S. Mitra, S. DeMarco, B. Holub [et al.] // *Regul Toxicol Pharmacol.* – 2020. – Vol. 117. – P. 1-10.
386. Mo, Y. Emerging role of melatonin and melatonin receptor agonists in sleep and delirium in intensive care unit patients. / Y. Mo, C.E. Scheer, G.T. Abdallah // *J Intensive Care Med.* – 2016. – Vol.31. – P.451-455.
387. Mocchetti, I. R. Neurotrophic factors in central nervous system trauma. / I.,-Mocchetti, J. R .Wrathall // *Journal of Neurotrauma.* – 1995. – Vol. 12 (5). – P. 853-870. <https://www.doi.org/10.1089/neu.1995.12.853>
388. Mohawk, J.A. The methamphetamine-sensitive circadian oscillator does not employ canonical clock genes. / J.A. Mohawk, M.L. Baer, M. Menaker // *Proc Natl Acad Sci.* – 2009. – Vol.106. – P. 3519-3524.
389. Molcan, L. Dim light at night attenuates circadian rhythms in the cardiovascular system and suppresses melatonin in rats. / L. Molcan, H. Sutovska, M. Okuliarova [et al.] // *Life Sci.* – 2019. – Vol. 231. – P. 116568.

390. Monteggia, L.M. Brain-derived neurotrophic factor conditional knockouts show gender differences in depression-related behaviors / L.M. Monteggia, B. Luikart, M. Barrot [et al.] // *Biol Psychiatry*. – 2007. – Vol. 61. – P. 187–197.
391. Moore, R.Y. Loss of a circadian adrenal corticosterone rhythm following suprachiasmatic lesions in the rat. / R.Y. Moore, V.B. Eichler // *Brain Res*. – 1972. – Vol.42. – P.201-206.
392. Moore, R.Y. The hypocretin neuron system: An arousal system in the human brain. / R.Y. Moore, E.A. Abrahamson, A. Van Den Pol [et al.] // *Arch. Ital. Biol*. – 2001. – Vol. 139. – P. 195-205.
393. Moore, R.Y. The organization of the human circadian timing system / R.Y. Moore // *Prog. Brain Res*. – 1992. –Vol. 93. – P. 101–117.
394. Moriya, T. Involvement of glial fibrillary acidic protein (GFAP) expressed in astroglial cells in circadian rhythm under constant lighting conditions in mice / T. Moriya, Y. Yoshinobu, Y. Kouzu [et al.] // *J Neurosci Res*. – 2000. – Vol. 60. – P.212–218.
395. Mortola, J.P. Hypoxia and circadian patterns / J.P. Mortola // *Respir Physiol Neurobiol*. – 2007. – Vol. 158. – P. 274–279.
396. Nagel, R. The miRNA-192/194 cluster regulates the Period gene family and the circadian clock. / R. Nagel, L. Clijsters, R. Agami // *FEBS J*. – 2009. – Vol. 276. – P. 5447-5455.
397. Nakahata, Y. Circadian control of the NAD⁺ salvage pathway by CLOCK-SIRT1 / Y. Nakahata, S. Sahar, G. Astarita [et al.] // *Science*. – 2009. – Vol. 324. – P. 654–657.
398. Narita, M. Direct involvement of orexinergic systems in the activation of the mesolimbic dopamine pathway and related behaviors induced by morphine./ M.Narita, Y. Nagumo, S. M. Hashimoto [et al.] // *J. Neurosci*. – 2006. – Vol. 26. – P. 398-405.
399. Nattie, E. Respiration and autonomic regulation and orexin / E. Nattie, A. Li // *Prog. Brain Res*. – 2012. – Vol. 198. – P. 25-46.
400. Nelson, R.J. Dark matters: effects of light at night on metabolism / R.J. Nelson, S. Chbeir // *Proc. Nutr. Soc*. – 2018. – Vol. 11. – P. 1-7.
401. Netto, L.E.S. The roles of peroxiredoxin and thioredoxin in hydrogen peroxide sensing and in signal transduction / L.E.S. Netto, F. Antunes // *Mol Cells*. – 2006. – Vol. 39. – P. 65–71.
402. Nishimura, T. Plasma catecholamines determination using high pressure liquid chromatography and their roles in blood pressure regulation and experimental hypertension in rats / T. Nishimura, I. Nishio, H. Ohtani, S. Jimbo [et al] // *Jap. Circul. J. Sci*. – 1979. – Vol. 43. – P. 855-865.

403. Nishiyama, H. Glial protein S100B modulates long-term neuronal synaptic plasticity / H. Nishiyama, T. Knopfel, S. Endo, S. Itohara // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2002. – Vol. 99. – P. 4037-4042.
404. Nitabach, M.N. Membranes, ions, and clocks: Testing the Njus–Sulzman–Hastings model of the circadian oscillator / M.N. Nitabach, T.C. Holmes, J. Blau // *Methods Enzymol.* – 2005. – Vol. 393. – P. 682–693.
405. Nohara, K. Manipulating the circadian and sleep cycles to protect against metabolic disease / K. Nohara, S.H. Yoo, Z.J. Chen // *Front. Endocrinol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 35.
406. O’Callaghan, J.P. Glial fibrillary acidic protein and related glial proteins as biomarkers of neurotoxicity / J.P. O’Callaghan, K. Sriram // *Expert Opin. Drug Saf.* – 2005. – Vol. 4(3) – P.433-442.
407. O’Neill, J.S. Circadian clocks in human red blood cells / J.S. O’Neill, A.B. Reddy // *Nature.* – 2011. – Vol. 469. – P. 498–503.
408. O’Neill, J.S. Circadian rhythms persist without transcription in a eukaryote. / J.S. O’Neill, O.G. van, L.E. Dixon, C. Troein, [et al.] // *Nature.* – 2011. – Vol.469. – P. 554-558.
409. Ohta, H. Constant light desynchronizes mammalian clock neurons./ H. Ohta, S. Yamazaki, D.G. McMahon // *Nat. Neurosci.* – 2005. – Vol. 8. – P. 267-269.
410. Oike, H. Feeding cues and injected nutrients induce acute expression of multiple clock genes in the mouse liver / H. Oike, K. Nagai, T. Fukushima [et al.] // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – P. e23709.
411. Oike, H. Resveratrol regulates circadian clock genes in Rat-1 fibroblast cells. / H. Oike, M. Kobori // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* – 2008. – Vol. 72. – P. 3038-3040.
412. Opitz, C.A. Dynamics of NADp-metabolism: Everything but constant / C.A. Opitz, I. Heiland // *Biochem Soc Trans.* – 2015. – Vol. 43. – P. 1127–1132.
413. Panda, S. Coordinated transcription of key pathways in the mouse by the circadian clock / S. Panda, M.P. Antoch, B.H. Miller [et al.] // *Cell.* – 2002. – 109. – P. 307–320.
414. Pandey, G.N. Brain-derived neurotrophic factor and tyrosine kinase B receptor signalling in post-mortem brain of teenage suicide victims / G.N. Pandey, X. Ren, H.S. Rizavi [et al.] // *Int J Neuropsychopharmacol.* – 2008. – Vol. 11. – P. 1047–1061.
415. Pandi-Perumal, S.R. Ramelteon: a review of its therapeutic potential in sleep disorders. / S.R. Pandi-Perumal, V. Srinivasan, D.W. Spence [et al.] // *Adv Ther.* – 2009. – Vol. 26, № 6. – P. 613-26.

416. Papazyan, R. Genetic and epigenomic mechanisms of mammalian circadian transcription / R. Papazyan, Y. Zhang, M.A. Lazar // *Nat. Struct. Mol. Biol.* – 2016. – Vol. 23. – P. 1045–1052.
417. Patel, S.A. Calorie restriction regulates circadian clock gene expression through BMAL1 dependent and independent mechanisms/ S.A. Patel, N. Velingkaar, K. Makwana [et al.] // *Sci. Rep.* – 2016. – Vol. 6. – P. 25970.
418. Peek, C.B. Circadian Clock Interaction with HIF1alpha Mediates Oxygenic Metabolism and Anaerobic Glycolysis in Skeletal Muscle / C.B. Peek, D.C. Levine, J. Cedernaes [et al.] // *Cell Metab.* – 2017. – Vol. 25. – P. 86–92.
419. Peek, C.B. Circadian clock NAD⁺ cycle drives mitochondrial oxidative metabolism in mice / C.B. Peek, A.H. Affinati, K.M. Ramsey, [et al.] // *Science.* – 2013. – Vol. 342. – P. 1243417.
420. Peeters, A. Role of PPAR in hepatic carbohydrate metabolism. / A. Peeters, M. Baes // *PPAR Res.* – 2010. – Vol. 2010. – P. 572405.
421. Pekovic-Vaughan, V. The circadian clock regulates rhythmic activation of the NRF2/glutathione-mediated antioxidant defense pathway to modulate pulmonary fibrosis / V. Pekovic-Vaughan, J. Gibbs, H. Yoshitane [et al.] // *Genes Dev.* – 2014. – Vol. 28. – P. 548–560.
422. Peyron, C. A mutation in a case of early onset narcolepsy and a generalized absence of hypocretin peptides in human narcoleptic brains. / C. Peyron, J. Faraco, W. Rogers [et al.] // *Nat. Med.* – 2000. – Vol. 6. – P. 991-997.
423. Pierpaoli, W. Circadian melatonin and young-to-old pineal grafting postpone aging and maintain juvenile conditions of reproductive functions in mice and rats / W. Pierpaoli, D. Bulian, A. Dall'Ara [et al.] // *Exp. Gerontol.* – 1997. – Vol. 32, No. 4-5. – P. 587-602.
424. Pierpaoli, W. The key of life: the reversal of aging with melatonin / W. Pierpaoli. – Perugia: Morlacchi Editore, 2007. – 268 p.
425. Pjrek, E. Agomelatine in the treatment of seasonal affective disorder / E. Pjrek, D. Winkler, A. Konstantinidis, [et al.] // *Psychopharmacology (Berl).* – 2007. – Vol. 190. – P. 575-579.
426. Preitner, N. The orphan nuclear receptor REV-ERBalpha controls circadian transcription within the positive limb of the mammalian circadian oscillator / N. Preitner, F. Damiola, L. Lopez-Molina // *Cell.* – 2002. – Vol. 110. – P. 251-260.
427. Qing, He. Regulation of HIF-1 α activity in adipose tissue by obesity-associated factors: adipogenesis, insulin, and hypoxia / Q. He, Z. Gao, J. Yin [et al.] // *American J. of Physiology-Endocrinology and Metabolism.* – 2011. – Vol. 300, Iss.5. – E877-E885.
428. Qiu, X. Calorie restriction reduces oxidative stress by SIRT3-mediated SOD2 activation / X. Qiu, K. Brown, M.D. Hirschey [et al.] // *Cell Metab.* – 2010. – Vol. 12. – P. 662-667.

429. Radha, E. Glutathione levels in human platelets display a circadian rhythm in vitro / E. Radha, T.D. Hill, G.H. Rao, J.G. White // *Thrombosis Res.* – 1985. – Vol. 40. – P. 823–831.
430. Rajaratnam, S.M. Melatonin agonist tasimelteon (VEC-162) for transient insomnia after sleep-time shift: two randomised controlled multicentre trials / S.M. Rajaratnam, M.H. Polymeropoulos, D.M. Fisher [et al.] // *Lancet.* – 2009. – Vol. 373, № 9662. – P.482-91.
431. Ralph M.R. A mutation of the circadian system in golden hamsters / M.R. Ralph, M. Menaker // *Science.* – 1988. – Vol. 241. – P.1225-1227.
432. Ramanathan, C. mTOR signaling regulates central and peripheral circadian clock function / C. Ramanathan, N.D. Kathale, D. Liu [et.al] // *PLoS Genet.* –2018. – Vol. 14. – P. e1007369.
433. Ramsey, K.M. Circadian clock feedback cycle through NAMPT-mediated NAD⁺ biosynthesis / K.M. Ramsey, J. Yoshino, C.S. Brace [et al.] // *Science.* – 2009. – Vol. 324. – P. 651-654.
434. Reddy, A. B. Circadian Orchestration of the Hepatic Proteome / A. B., Reddy, N. A. Karp, E. S. Maywood, [et al.] // *Current Biology.* – 2006– Vol. 16. – Issue 11. – P. 1107-1115.
435. Reddy, A.B. Metabolic and nontranscriptional circadian clocks: Eukaryotes / A.B. Reddy, G. Rey // *Annu Rev Biochem.* – 2014. – Vol. 83. – P. 165–189.
436. Reddy, A.B. Metaclocks / A.B. Reddy, J.S. O’Neill // *Nature.* – 2011. – Vol. 12. – P. 612.
437. Refinetti, R. The circadian rhythm of body temperature / R. Refinetti, M. Menaker // *Physiol. Behav.* – 1992. – Vol. 51, Issue 3. – P 613-637. doi.org/10.1016/0031-9384(92)90188-8
438. Reilly, P.M. Pharmacologic approach to tissue injury mediated by free radicals and other reactive oxygen metabolites / P. M. Reilly, H. J. Schiller, G. B. Bulkley // *The American Journal of Surgery.* – 1991. – Vol. 161, № 4. – P. 488–503.
439. Reilly, T. A review on some of the problems associated with long-distance journeys / T. Reilly, J. Waterhouse, B. Edwards // *Clin Ter.* – 2008. – Vol. 159, № 2. – P.117-127.
440. Reinke, H. Crosstalk between Metabolism and Circadian Clocks / H. Reinke, G. Asher // *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* – 2019. – Vol. 20. – P. 227-241. doi:10.1038/s41580-018-0096-9
441. Reiter, R.J. Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs / R.J. Reiter, D.X. Tan, R.M. Sainz [et al.] // *Journal of Pharmacy and Pharmacology.* – 2002. – Vol. 54, № 10. – P. 1299–1321.
442. Reiter, R.J. Neurotoxins: free radical mechanisms and melatonin protection / R.J.Reiter, L.C.Manchester, D.X. Tan // *Curr. Neuropharmacol.* – 2010. – Vol. 8, No. 3. – P. 194-210.

443. Rey, G. Interplay between cellular redox oscillations and circadian clocks / G. Rey, A.B. Reddy // *Diabetes Obes Metab.* – 2015. – Vol. 17. – P. 55–64.
444. Rey, G. The pentose phosphate pathway regulates the circadian clock / G. Rey, U.K. Valekunja, K.A. Feeney [et al.] // *Cell Metab.* – 2016. – Vol. 24. – P. 462–473.
445. Rhee, S.G. Overview on peroxiredoxin / S.G. Rhee // *Mol Cells.* – 2016. – Vol. 39. – P. 1–5.
446. Rhee, S.G. Peroxiredoxin, a novel family of peroxidases / S.G. Rhee, S.W. Kang, T.S. Chang [et al.] // *IUBMB Life.* – 2001. – Vol. 52. – P. 35–41.
447. Ribas-Latre, A. Interdependence of Nutrient Metabolism and the Circadian Clock System: Importance for Metabolic Health / A. Ribas-Latre, K. Eckel-Mahan // *Mol. Metab.* – 2016. – Vol. 5. – P. 133-152.
448. Richardson, G.S. Circadian phase-shifting effects of repeated ramelteon administration in healthy adults / G.S. Richardson, P.C. Zee, S. Wang-Weigand, [et al.] // *J Clin Sleep Med.* – 2008. – Vol. 4, № 5. – P.456-61.
449. Russart, K.L. Light at night exacerbates metabolic dysfunction in a polygenic mouse model of type 2 diabetes mellitus / K.L. Russart, S.A. Chbeir, R.J. Nelson, U.J. Magalang // *Life Sci.* – 2019. – Vol. 231. – P. 116574.
450. Rutter, J. Regulation of clock and NPAS2 DNA binding by the redox state of NAD cofactors / J. Rutter, M. Reick, L.C. Wu, S.L. McKnight // *Science.* – 2001. – Vol. 293. – P. 510-514.
451. Saarelainen, T. Activation of the TrkB neurotrophin receptor is induced by antidepressant drugs and is required for antidepressant-induced behavioral effects / T. Saarelainen, P. Hendolin, G. Lucas [et al.] // *J Neurosci.* – 2003. – Vol. 23. – P. 349–357.
452. Sadacca, L.A. An intrinsic circadian clock of the pancreas is required for normal insulin release and glucose homeostasis in mice / L.A. Sadacca, K.A. Lamia, A.S. deLemos, B. Blum, C.J. Weitz // *Diabetologia.* – 2011. – Vol. 54. – P. 120-124.
453. Sahar, S. Altered behavioral and metabolic circadian rhythms in mice with disrupted NADp oscillation / S. Sahar, V. Nin, M.T. Barbosa [et al.] // *Aging.* – 2011. – Vol. 3. – P. 794–802.
454. Sahar, S. Circadian control of fatty acid elongation by SIRT1 protein-mediated deacetylation of acetyl-coenzyme A synthetase 1 / S. Sahar, S. Masubuchi, K. Eckel-Mahan, S. Vollmer, [et al.] // *J Biol Chem.* – 2014. – Vol. 289. – P. 6091-6097.
455. Saiz, N. The Lack of Light-Dark and Feeding-Fasting Cycles Alters Temporal Events in the Goldfish (*Carassius Auratus*) Stress Axis. / N. Saiz, M. Gómez-Boronat, N. De Pedro [et al.] // *Animals.* – 2021. – Vol. 11. – P. 669. doi:10.3390/ ani11030669.

456. Sakurai, T. Orexins and orexin receptors: A family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior / T. Sakurai, A. Amemiya, M. Ishii, [et al.] // *Cell*. – 1998. – Vol. 92. – P. 573-585.
457. Sakurai, T. The neural circuit of orexin (hypocretin): Maintaining sleep and wakefulness / T. Sakurai // *Nat. Rev. Neurosci.* – 2007. – Vol. 8. – P. 171-181.
458. Salgado-Delgado, R. Food intake during the normal activity phase prevents obesity and circadian desynchrony in a rat model of night work / R. Salgado-Delgado, M. Angeles-Castellanos, N. Saderi, R.M. Buijs, C. Escobar // *Endocrinology*. – 2010. – Vol. 151. – P. 1019-1029.
459. Salgado-Delgado, R. Internal desynchronization in a model of night-work by forced activity in rats / R. Salgado-Delgado, M. Angeles-Castellanos, M.R. Buijs, C. Escobar // *Neuroscience*. – 2008. – Vol. 154. – P. 922-931.
460. Sasi, M. Neurobiology of local and intercellular BDNF signaling / M. Sasi, B. Vignoli, M. Canossa, R. Blum // *Eur. J. Physiol.* – 2017. – Vol. 469. – P. 593-610.
461. Sato, S. Circadian reprogramming in the liver identifies metabolic pathways of aging / S. Sato, G. Solanas, F.O. Peixoto, [et al.] // *Cell*. – 2017. – Vol. 170. – P. 664-677.e611.
462. Sato, T.K. A functional genomics strategy reveals Rora as a component of the mammalian circadian clock / T.K. Sato, S. Panda, L.J. Miraglia, [et al.] // *Neuron*. – 2004. – Vol. 43. – P. 527-537.
463. Sato, T.K. Feedback repression is required for mammalian circadian clock function / T.K. Sato, R.G. Yamada, H. Ukai, [et al.] // *Nat. Genet.* – 2006. – Vol. 38. – P. 312-319.
464. Schibler, U. Clock-Talk: Interactions between Central and Peripheral Circadian Oscillators in Mammals / Schibler, U., Gotic, I., Saini, C., Gos, P., Curie, T., Emmenegger, Y., [et al.] // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* – 2015. – Vol. 80. – P. 223-232.
465. Schibler, U. Peripheral circadian oscillators in mammals: Time and food / U. Schibler, J. Ripperger, S.A. Brown // *J. Biol. Rhythms*. – 2003. – Vol. 18. – P. 250-260.
466. Schroeder, A.M. How to fix a broken clock / A.M. Schroeder, C.S. Colwell // *Trends Pharmacol. Sci.* - 2013. – Vol. 34. P. 605– 619.
467. Selinfreud, R.H. Neurotrophic protein S100 beta stimulates glial cell proliferation / R.H. Selinfreud, S.W. Barger, W.J. Pledger, L.J. Van Eldik // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. – 1991. – V. 88. – P. 3554-2558.
468. Semenza, G.L. Hypoxia-Inducible Factors in Physiology and Medicine / G. L. Semenza // *Cell*. – 2012. – Vol. 148, №. 3. – P.399-408.

469. Semplici, F. Human mutation within Per-Arnt-Sim (PAS)-domain containing protein kinase (PASK) causes basal insulin hypersecretion / F. Semplici, M. Vaxillaire, S. Fogarty [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2011. – Vol. 286. – P. 44005-44014.
470. Shadrina, M. Comparison of the temporary dynamics of NGF and BDNF gene expression in rat hippocampus, frontal cortex, and retina under Semax action / M. Shadrina, T. Kolomin, T. Agapova, [et al.] // *Journal of Molecular Neuroscience.* – 2010. – Vol. 41, № 1. – P. 30-35.
471. Shadrina, M. I. Rapid induction of neurotrophin mRNAs in rat glial cell cultures by Semax, an adrenocorticotropic hormone analog / M. I. Shadrina, O. V. Dolotov, I. A. Grivennikov, [etal.] // *Neuroscience Letters.* 2001. – Vol. 308, № 2. – P. 115-118.
472. Sharma, S. The role of melatonin in diabetes: therapeutic implications / S. Sharma, H. Singh, N. Ahmad [et al.] // *Arch Endocrinol Metab.* – 2015. – Vol. 59. – P. 391-399.
473. Sherman, H. Timed high-fat diet resets circadian metabolism and prevents obesity / H. Sherman, Y. Genzer, R. Cohen, N. Chapnik, Z. Madar O. Froy // *FASEB J.* – 2012. – Vol. 26. – P. 3493-3502.
474. Shevchenko, K.V. Proteolysis of Pro-Gly-Pro-Leu in the hippocampus, cerebellum, and cerebral cortex in rats after intravenous injection. / K.V. Shevchenko, T.V. V'yunova, L.A. Andreeva, I.Y. Nagaev, V.P. Shevchenko, N.F. Myasoedov // *Bull Exp Biol Med.* – 2014. – Vol. 158, № 1. – P.37-41. doi: 10.1007/s10517-014-2686-7.
475. Shi, S. Circadian clock gene *Bmal1* is not essential; functional replacement with its paralog, *Bmal2* / S. Shi, A. Hida, O.P. McGuinness, D.H. Wasserman, S. Yamazaki, C.H. Johnson // *Curr. Biol.* – 2010. – Vol. 20. – P.316-321.
476. Shim, H.S. Rapid activation of CLOCK by Ca^{2+} -dependent protein kinase C mediates resetting of the mammalian circadian clock / H.S. Shim, H. Kim, J. Lee [et al.] // *EMBO Rep.* – 2007. – Vol. 8. – P. 366–371.
477. Siepkka, S.M. Circadian mutant Overtime reveals F-box protein FBXL3 regulation of Cryptochrome and Period gene expression / S.M. Siepkka, S.H. Yoo, J. Park [et al.] // *Cell.* – 2007. – Vol. 129. – P. 1011– 1023.
478. Siepkka, S.M. Genetics and neurobiology of circadian clocks in mammals / S.M. Siepkka, S.H. Yoo, J. Park [et al.] // *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* – 2007. – Vol.72. – P. 251-259.
479. Silverman, W.F. Neuron-specific enolase reflects metabolic activity in mesencephalic neurons of the rat / W.F. Silverman // *Brain Res.* – 1992. – Vol. 577, № 2. – P. 276-84. doi: 10.1016/0006-8993(92)90284-g.

480. Simonneaux, V. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters / V. Simonneaux, C. Ribelayga // *Pharmacol Rev.* – 2003. – Vol. 55, № 2. – P.325-95. doi: 10.1124/pr.55.2.2. PMID: 12773631.
481. Singh, D. Effect of phenobarbital on free radicals in neonates with hypoxic ischemic encephalopathy: a randomized controlled trial / D. Singh, P. Kumar, S. Majumdar, A. Narang // *Journal of Perinatal Medicine.* – 2004. – Vol. 32, № 3. – P. 278–281.
482. Singh, K. Circadian rhythms and behaviour / K. Singh // *Everyman's Sci.* –1999. – Vol. 34, № 6. – P. 124–126.
483. Sinturel, F. Circadian Hepatocyte Clocks Keep Synchrony in the Absence of a Master Pacemaker in the Suprachiasmatic Nucleus or Other Extrahepatic Clocks / F. Sinturel, P. Gos, V. Petrenko, [et al.] // *Genes Dev.* – 2021. – Vol. 35. – P. 329-334.
484. Slotten, H.A. Influence of the mode of daily melatonin administration on entrainment of rat circadian rhythms / H.A. Slotten, B. Pitrovsky, P. Pévet // *J. Biol. Rhythm.* – 1999. – Vol. 14, No. 5. – P. 347-353.
485. Smith, L.E. Oxygen-induced retinopathy in the mouse / L.E. Smith, E. Wesolowski, A. McLellan [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* –1994. – Vol. 35. – P. 101–111.
486. Solt, L.A. Regulation of circadian behaviour and metabolism by synthetic REV-ERB agonists / L.A. Solt, Y. Wang, S. Banerjee [et al.] // *Nature.* – 2012. – Vol. 485. – P. 62–68.
487. Soya, S. Evolution of Orexin Neuropeptide System: Structure and Function / S. Soya, T. Sakurai // *Front. Neurosci.* – 2020. – Vol. 14. – P. 691.
488. Speakman, J.R. Caloric restriction / J.R. Speakman, S.E. Mitchell // *Mol. Aspects Med.* – 2011. – Vol. 32. – P. 159-221.
489. Stehle, J.H. Of rodents and ungulates and melatonin: Creating a uniform code for darkness by different signaling mechanisms / J.H. Stehle, C. von Gall, C. Schomerus, H.-W. Korf // *J. Biol. Rhythms.* – 2001. – Vol. 16. – P. 312-325.
490. Steininger, T.L. Anatomy of the hypocretin system. In *Hypocretins: Integrators of Physiological Functions* / T.L. Steininger, T.S. Kilduff. – Springer: Boston. MA. USA. – 2005. – P. 61-75.
491. Steinlechner, S. Robust circadian rhythmicity of Per1 and Per2 mutant mice in constant light, and dynamics of Per1 and Per2 gene expression under long and short photoperiods / S. Steinlechner, B. Jacobmeier, F. Scherbarth, [et al.] // *J. Biol. Rhythm.* – 2002. – Vol. 17. – P. 202-209.

492. Stephan, F.K. Circadian rhythms in drinking behavior and locomotor activity of rats are eliminated by hypothalamic lesions / F.K. Stephan, I. Zucker // Proc Natl Acad Sci USA. – 1972. – Vol.69. – P.1583-1586.
493. Stokkan, K.A. Adaptations for life in the Arctic: Evidence that melatonin rhythms in reindeer are not driven by a circadian oscillator but remain acutely sensitive to environmental photoperiod / K.A. Stokkan, B.E.H. van Oort, N.J.C. Tyler [et al.] // J. Pineal Res. – 2007. – Vol. 43. – P. 289-293.
494. Stokkan, K.A. Entrainment of the circadian clock in the liver by feeding / K.A. Stokkan, S.Yamazaki, H. Tei [et al.] // Science. – 2001. – Vol. 291. – P. 490-493.
495. Su, Z. Influence of prior Na pump activity on pump and $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ exchange currents in mouse ventricular myocytes / Z. Su, A. Zou, A. Monaka A [et al.] // Am J Physiol Heart Circ Physiol. – 1998. – Vol. 275. – P. 1808 – H1817.
496. Sudo, M. Constant light housing attenuates circadian rhythms of mPer2 mRNA and mPER2 protein expression in the suprachiasmatic nucleus of mice / M. Sudo, K. Sasahara, T. Moriya, M. Akiyama, T. Hamada, S. Shibata // Neuroscience. – 2003. – Vol. 121. – P. 493-499.
497. Sun, L. Resveratrol restores the circadian rhythmic disorder of lipid metabolism induced by high-fat diet in mice / L. Sun, Y. Wang, Y. Song, [et al.] // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 2015. – Vol. 458. – P. 86-91.
498. Swift, F. Functional coupling of 2-isoform Na^+/K^+ -ATPase and Ca^{2+} extrusion through the $\text{Na}(+)/\text{Ca}(2+)$ -exchanger in cardiomyocytes / F. Swift, N. Tovsrud, I. Sjaastad [et al.] // Cell Calcium. – 2010. – Vol. 28. – P. 54-60.
499. Tahara, Y. Refeeding after fasting elicits insulin-dependent regulation of Per2 and Rev-erbalpha with shifts in the liver clock / Y. Tahara, M. Otsuka, Y. Fuse [et al.] // J. Biol. Rhythms. – 2011. – Vol. 26. – P. 230-240.
500. Takahashi, J.S. Regulation of circadian rhythmicity / J.S. Takahashi // Science. – 1982. – Vol. 217, № 4565. – P. 1104–1111.
501. Takahashi, J.S. The genetics of mammalian circadian order and disorder: Implications for physiology and disease / J.S. Takahashi, H.K. Hong, C.H. Ko [et al.] // Nat. Rev. Genet. – 2008. – Vol. 9. – P. 764-775.
502. Takahashi, J.S. Transcriptional architecture of the mammalian circadian clock / J.S. Takahashi // Nat. Rev. Genet. – 2017. – Vol. 18. – P. 164–179.
503. Takano, H. Peroxisome proliferator-activated receptor γ and cardiovascular diseases / H. Takano, I. Komuro // Circulation Journal. – 2009. – Vol. 73, № 2. – P. 214–220.

504. Tamaru, T. ROS stress resets circadian clocks to coordinate pro-survival signals / T. Tamaru, M. Hattori, Y. Ninomiya [et al.] // *PLoS ONE*. – 2013. – Vol. 8. – doi: 10.1371/journal.pone.0082006.
505. Tan, C.K. Synthetic and natural Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) agonists as candidates for the therapy of the metabolic syndrome / C.K.Tan, Y. Zhuang, W. Wahli // *Expert. Opin. Ther. Targets*. – 2017. – Vol. 21. – P. 333-348.
506. Taniwaki, T. Pigment epithelium-derived factor is a survival factor for cerebellar granule cells in culture / T. Taniwaki, S.P. Baccera, G.J. Chader [et al.] // *J. Neurochem*. – 1995. – Vol. 64. – P. 2509–2517.
507. Tapia-Osorio, A. Disruption of circadian rhythms due to chronic constant light leads to depressive and anxiety-like behaviors in the rat / A. Tapia-Osorio, R. Salgado-Delgado, M. Angeles-Castellanos, C. Escobar // *Behav. Brain Res*. – 2013. – Vol. 252. – P. 1-9.
508. Tchekalarova, J. Agomelatine treatment corrects symptoms of depression and anxiety by restoring the disrupted melatonin circadian rhythms of rats exposed to chronic constant light / J. Tchekalarova, T. Stoyanova, K. Ilieva [et al.] // *Pharmacol. Biochem. Behav*. – 2018. – Vol. 171. – P. 1-9.
509. Terazono, H. Adrenergic Regulation of Clock Gene Expression in Mouse Liver. / H. Terazono, T. Mutoh, S. Yamaguchi [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci*. – 2003. – Vol. 100. – P. 6795-6800. doi:10.1073/pnas.0936797100.
510. Thannickal, T.C. Reduced number of hypocretin neurons in human narcolepsy / T.C. Thannickal, R.Y. Moore, R. Nienhuis, [et al.] // *J.M Neuron*. – 2000. – Vol. 27. – P. 469-474.
511. Thompson, R.M. Decreased BDNF, trkB-TK and GAD67 mRNA expression in the hippocampus of individuals with schizophrenia and mood disorders / R.M. Thompson, C.S. Weickert, E. Wyatt [et al.] // *J Psychiatry Neurosci*. – 2011. – Vol. 36. –P. 195–203.
512. Tilson, H.A. Neurobehavioral techniques to assess the effects of chemicals on the nervous system / H.A. Tilson // *Ann Rev Pharmacol Toxicol*. – 1984. – № 24 – P.425-450.
513. Trinder, P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen acceptor / P. Trinder // *Ann Clin Biochem* – 1969. – Vol. 6. – P. 24-27.
514. Triolo, D. Loss of glial fibrillary acidic protein (GFAP) impairs Schwann cell proliferation and delays nerve regeneration after damage / D. Triolo, G. Dina, I. Lorenzetti [et al.] // *Journal of Cell Science* – 2006. – Vol. 119, № 19. – P. 3981-3993.
515. Trump, R.P. Optimized chemical probes for REV-ERB α / R.P. Trump, S. Bresciani, A.W. Cooper [et al.] // *J. Med. Chem*. – 2013. – Vol. 56. – P. 4729–4737.

516. Tu, B.P. Metabolic cycles as an underlying basis of biological oscillations / B.P. Tu, S.L. McKnight // *Nat Rev Mol Cell Biol.* – 2006. – Vol. 7. – P. 696–701.
517. Turek, F.W. Obesity and metabolic syndrome in circadian Clock mutant mice / F.W. Turek, C. Joshu, A. Kohsaka, [et al.] // *Science.* – 2005. – Vol. 308. – P. 1043-1045.
518. Uchiyama, M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test / M. Uchiyama, M. Michara // *Analytical Biochemistry.* – 1978. – Vol. 86, № 1. – P. 271–278.
519. Ukai-Tadenuma, M. Delay in feedback repression by cryptochrome 1 is required for circadian clock function / M. Ukai-Tadenuma, R.G. Yamada, H. Xu [et al.] // *Cell.* – 2011. – Vol. 144. – P. 268-281.
520. Um, J.H. AMPK regulates circadian rhythms in a tissue- and isoform-specific manner / J.H. Um, J.S. Pendergast, D.A. Springer, [et al.] // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – P. e18450.
521. Van Ooijen, G. Non-transcriptional oscillators in circadian timekeeping / G. Van Ooijen, A.J. Millar // *Trends Biochem Sci.* – 2012. – Vol. 37. – P. 484–492.
522. Vijayakumar, H.N. Effect of melatonin on duration of delirium in organophosphorus compound poisoning patients: a double-blind randomised placebo controlled trial / H.N. Vijayakumar, K. Ramya, D.R. Duggappa, [et al.] // *Indian J Anaesth.* – 2016. – Vol.60. – P. 814-20.
523. Villano, I. Basal Forebrain Cholinergic System and Orexin Neurons: Effects on Attention / I. Villano, A. Messina, A. Valenzano, [et al.] // *Front. Behav. Neurosci.* – 2017. – Vol. 11. – P. 10.
524. Vitaterna, M.H. Mutagenesis and mapping of a mouse gene, Clock, essential for circadian behavior / M.H. Vitaterna, D.P. King, A.M. Chang, [et al.] // *Science.* – 1994. – Vol. 264(5159). – P.719-725.
525. Vollmers, C. Time of feeding and the intrinsic circadian clock drive rhythms in hepatic gene expression / C. Vollmers, S. Gill, L. DiTacchio, [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2009. – Vol. 106. – P. 21453-21458.
526. Vyunova, T. V. An integrated approach to study the molecular aspects of regulatory peptides biological mechanism / T. V.Vyunova, L. A. Andreeva, K. V. Shevchenko [et al.] // *J Labelled Comp Radiopharm.* – 2019. – Vol. 62, № 12. – P. 812-822.
527. Walker, J.R. Applications of a rat multiple tissue gene expression data set / J.R. Walker, A.I. Su, D.W. Self, [et al.] // *Genome Res.* – 2004. – Vol. 14, № 4. – P.742-749.
528. Wallach, T. Chemical chronobiology: toward drugs manipulating time / T. Wallach, A. Kramer // *FEBS Lett.* – 2015. – Vol. 589. – P. 1530–1538.

529. Walton, Z.E. Acid Suspends the Circadian Clock in Hypoxia through Inhibition of mTOR / Z.E. Walton, C.H. Patel, R.C. Brooks // *Cell*. – 2018. – Vol. 174(1). – P. 72-87.
530. Wang, H.Y. Diurnal modulation of the Na⁺/K⁺-ATPase and spontaneous firing in the rat retinorecipient clock neurons / H.Y. Wang, R.C. Huang // *J Neurophysiol*. – 2004. – Vol. 92. – P. 2295–2301.
531. Wang, N. Vascular PPAR γ controls circadian variation in blood pressure and heart rate through Bmal1 / N. Wang, G. Yang, Z. Jia [et al.] // *Cell Metabolism*. – 2008. – Vol. 8, № 6. – P. 482–491.
532. Wang, T.A. Circadian rhythm of redox state regulates excitability in suprachiasmatic nucleus neurons / T.A. Wang, Y.V. Yu, G. Govindaiah [et al.] // *Science*. – 2012. – Vol. 337. – P. 839–842.
533. Wang, X. Methazolamide and Melatonin Inhibit Mitochondrial Cytochrome C Release and Are Neuroprotective in Experimental Models of Ischemic Injury / X. Wang, B.E. Figueroa, I.G. Stavrovskaya [et al.] // *Stroke*. – 2009. – Vol. 40, № 5. – P. 1877–1885.
534. Wang, Y.C. Effects of sodium pump activity on spontaneous firing in neurons of the rat suprachiasmatic nucleus / Y.C. Wang, R.C. Huang // *J Neurophysiol*. – 2006. – Vol. 96. – P. 109–118.
535. Weidemann, A. Biology of HIF-1 α / A. Weidmann, R.S. Johnson // *Cell Death Differ*. – 2008. – Vol. 15. – P. 621–627.
536. Weindruch, R. The retardation of aging by caloric restriction: Studies in rodents and primates / R. Weindruch // *Toxicol. Pathol.* – 1996. – Vol. 24. – P. 742-745.
537. Welsh, D.K. Bioluminescence imaging of individual fibroblasts reveals persistent, independently phased circadian rhythms of clock gene expression / D.K. Welsh, S.H. Yoo, A.C. Liu [et al.] // *Curr. Biol.* – 2004. – Vol. 14. – P. 2289–2295.
538. Welsh, D.K. Individual neurons dissociated from rat suprachiasmatic nucleus express independently phased circadian firing rhythms / D.K. Welsh, D.E. Logothetis, M. Meister, S.M. Reppert // *Neuron*. – 1995. – Vol. 4. – P. 697-706.
539. Wideman, C.H. Constant light induces alterations in melatonin levels, food intake, feed efficiency, visceral adiposity, and circadian rhythms in rats / C.H. Wideman, H.M. Murphy // *Nutr. Neurosci.* – 2009. – Vol. 12. – P. 233-240.
540. Wilking, M. Circadian rhythm connections to oxidative stress: Implications for human health / M. Wilking, M. Ndiaye, H. Mukhtar [et al.] // *Antioxid Redox Signal*. – 2013. – Vol. 19. – P. 192–208.
541. Winder, W.W. AMP-activated protein kinase, a metabolic master switch: Possible roles in type 2 diabetes / W.W. Winder, D.G. Hardie // *Am. J. Physiol.* – 1999. – Vol. 277. – P. E1-E10.

542. Winterbourn, C.C. Thiol chemistry and specificity in redox signaling / C.C. Winterbourn, M.B. Hampton // *Free Radic Biol Med.* – 2008. – Vol. 45. – P. 549–561.
543. Wu, G. MetaCycle: an integrated R package to evaluate periodicity in large scale data / G. Wu, R.C. Anafi, M.E. Hughes [et al.] // *Bioinformatics.* – 2016. – Vol. 32. – P. 3351–3353.
544. Wu, L. Rethinking the clockwork: redox cycles and nontranscriptional control of circadian rhythms / L. Wu, A.B. Reddy // *Biochem Soc Trans.* – 2014. – Vol. 42. – P. 1-10.
545. Wu, Y. Reciprocal Regulation between the Circadian Clock and Hypoxia Signaling at the Genome Level in Mammals / Y. Wu, D. Tang, N. Liu [et al.] // *Cell Metab.* – 2017. – Vol. 25. – P. 73–85.
546. Yabe, T. NF- κ B activation is required for the neuroprotective effects of pigment epithelium-derived factor (PEDF) on cerebellar granule neurons / T. Yabe, D. Wilson, J. P. Schwartz // *Journal of Biological Chemistry.* – 2001. – Vol. 276, № 46. – P. 43313–43319.
547. Yagita, K. Mini screening of kinase inhibitors affecting period-length of mammalian cellular circadian clock / K. Yagita, I. Yamanaka, S. Koinuma [et al.] // *Acta Histochem. Cytochem.* – 2009. – Vol. 42. – P. 89–93.
548. Yamamuro, D. Peripheral circadian rhythms in the liver and white adipose tissue of mice are attenuated by constant light and restored by time-restricted feeding / D. Yamamuro, M. Takahashi, S. Nagashima [et al.] // *PLoS ONE.* – 2020. – Vol. 15. – P. e0234439.
549. Yamanaka, A. Hypothalamic orexin neurons regulate arousal according to energy balance in mice / A. Yamanaka, C.T. Beuckmann, J.T. Willie [et al.] // *Neuron.* – 2003. – Vol. 38. – P. 701-713.
550. Yannielli, P. Let there be "more" light: enhancement of light actions on the circadian system through non-photic pathways / P. Yannielli, M.E. Harrington // *Prog Neurobiol.* – 2004. – 74, № 1. – P.59-76.
551. Yin, L. Rev-erb α , a heme sensor that coordinates metabolic and circadian pathways / L. Yin, N. Wu, J.C. Curtin, [et al.] // *Science.* – 2007. – Vol. 318. – P. 1786-1789.
552. Yin, L. The orphan nuclear receptor Rev-erb α recruits the N-CoR/histone deacetylase 3 corepressor to regulate the circadian Bmal1 gene / L. Yin, M.A. Lazar // *Mol. Endocrinol.* – 2005. – Vol. 19. – P.1452-1459.
553. Yoo, S.H. Competing E3 ubiquitin ligases govern circadian periodicity by degradation of CRY in nucleus and cytoplasm / S.H. Yoo, J.A. Mohawk, S.M. Siepkha [et al.] // *Cell.* – 2013. – Vol. 152. – P. 1091– 1105.

554. Yoo, S.H. Period2:Luciferase real-time reporting of circadian dynamics reveals persistent circadian oscillations in mouse peripheral tissues / S.H. Yoo, S. Yamazaki, P.L. Lowrey, [et al.] // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2004. – Vol. 101. – P.5339-5346.
555. Yoshida, Y. Cross-talk between the cellular redox state and the circadian system in *Neurospora* / Y. Yoshida, H. Iigusa, N. Wang [et al.] // *PLoS ONE.* – 2011. – Vol. 6. – e28227. – doi: 10.1371/journal.pone.0028227.
556. Yoshimura, S. Inhibition of neutral sphingomyelinase activation and ceramide formation by glutathione in hypoxic PC12 cell death / S. Yoshimura, Y. Banno, S. Nakashima // *Journal of Neurochemistry.* – 1999. – Vol. 73, № 2. – P. 675–683.
557. Yu, H. The role of BDNF in depression on the basis of its location in the neural circuitry / H. Yu, Z.Y. Chen // *Acta Pharmacol.* – 2011. – Vol. 32. – P. 3–11.
558. Zeng, L. Rapid Evolution of Genes Involved in Learning and Energy Metabolism for Domestication of the Laboratory Rat / L. Zeng, C. Ming, Y. Li [et al.] // *Molecular Biology and Evolution.* – 2017. – Vol. 34. – P. 3148-3153.
559. Zhang, E.E. Cryptochrome mediates circadian regulation of cAMP signaling and hepatic gluconeogenesis / E.E. Zhang, Y. Liu, R. Dentin [et al.] // *Nat Med.* – 2010. – Vol. 16. – P. 1152-1156.
560. Zhang, R. A circadian gene expression atlas in mammals: implications for biology and medicine / R. Zhang, N.F. Lahens, H.I. Ballance [et al.] // *PNAS.* – 2014. – Vol. 111. – P. 16219–16242.
561. Zhao, X. Circadian amplitude regulation via FBXW7-targeted REV-ERB α degradation / X. Zhao, T. Hirota, X. Han [et al.] // *Cell.* – 2016. – Vol. 165. – P. 1644–1657.
562. Zheng, B. Nonredundant roles of the mPer1 and mPer2 genes in the mammalian circadian clock / B. Zheng, U. Albrecht, K. Kaasik [et al.] // *Cell.* – 2001. – Vol. 105. – P. 683–694.
563. Zubidat, A. Spectral and duration sensitivity to light-at-night in 'blind' and sighted rodent species / A. Zubidat, R. Nelson, H. Abraham // *The Journal of experimental biology.* – 2011. – Vol. 214. – P. 3206-3217.