

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)

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

доктора биологических наук

Санкт-Петербург – 2024

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства» и в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научные консультанты:

доктор медицинских наук, доцент
Кашуро Вадим Анатольевич

доктор медицинских наук, профессор
Иванов Дмитрий Олегович

Официальные оппоненты:

Гончаров Николай Васильевич – доктор биологических наук, Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова Российской академии наук, лаборатория сравнительной биохимии ферментов, заведующий.

Оковитый Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии и клинической фармакологии, заведующий.

Гайковая Лариса Борисовна – доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего образования "Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова" Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра биологической и общей химии им. В. В. Соколовского заведующий.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е. А. Вагнера» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится « ____ » _____ 2024 г. в ____ часов на заседании диссертационного совета 24.1.158.02 на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (197022, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12) по адресу: Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., д. 71.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Институт экспериментальной медицины» (197022, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д.12)
и на сайте <https://iemsfb.ru/external/батоцыренова-екатерина-геннадьевна/>

Автореферат разослан « ____ » _____ 2024 г.

Учёный секретарь диссертационного совета
кандидат медицинских наук

Мухин Валерий Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В основе механизма адаптации живых организмов в пространственно-временном континууме лежат биологические ритмы. Биологические ритмы контролируют 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 околосоуточным. Цикл освещенности является доминирующим временным указателем для формирования эндогенных циркадианных ритмов, которые действуют практически на все функции организма (Агаджанян Н.А. и др., 2013; Алякринский Б.С. и др., 1985; Asher G., 2011). 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 (Bass J.S., Takahashi, 2010; Challet E., 1999; Kalsbeek A., 2014). 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 (Reinke H., 2019; Ribas-Latre, A., 2016). 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 (Stephan F.K., 1972; 2007; Tapia-Osorio A., 2013). 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» (Чибисов С. М., 2018).

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 (Bedrosian T. et al, 2013; , Lowrey P.L., et al, 2004; Vollmers C. et al, 2009; Yannielli P. et al, 2004). 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 (Баевский Р.М., и др., 2008; Гехт, К. и др., 1989; Grubisic M. et al., 2019; Haus E. et al., 2006). 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 (Анисимов В.Н., и др., 2013; Виноградова, И.А. и др., 2014; Костенко Е.В. и др., 2014).

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) (Herxheimer A. et al., 2001; Tchekalarova J. et al., 2018; Millan M.J. et al., 2003). Также предлагается регулятор метаболизма эндогенного мелатонина тетрапептид – эпиталон (Анисимов, В.Н. и др., 2001; Виноградова, И.А. и др., 2007; Мендель В.Э. и др., 2010). 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.

Степень разработанности темы исследования

Согласно данным литературы до недавнего времени считалось, что измерение времени предназначено исключительно для определенных пейсмекерных клеток в супрахиазматических ядрах гипоталамуса. Открытие периферических осцилляторов, способных также влиять на время и метаболизм клетки, изменило подходы к процессам адаптации организмов к изменному циклу освещения. Возникающие противоречия между разноуровневыми генераторами колебаний ввиду изменения светового режима (естественного или искусственного) плохо изучены. Есть данные, что в основе развития разных психических нарушений, ожирения, сахарного диабета 2 типа лежит именно хроническое нарушение биологических ритмов. Проведено достаточно большое количество исследований, связанных с изучением молекулярной структуры часов, на уровне клеток разных тканей. Были использованы разные варианты диет, содержащие разные количества жиров, углеводов при разных модуляциях светового режима. Также были проведены исследования с изменением физической нагрузки при световом десинхронозе. В результате было выяснено, что периферическая осцилляторная система очень динамична и может меняться в зависимости от внешних условий. Возникает вопрос, почему не происходит синхронизации между ведущим пейсмекером и периферическими осцилляторами? Почему генотипическая подстройка не справляется с процессом адаптации к изменившимся условиям освещения? В данной работе использован другой подход, за счет воздействия на первичные периферические осцилляторы, выяснить степень взаимосвязи между центральным и периферическим звеном многоуровневой часовой системы. Для поддержания работоспособности организма в условиях светового десинхроноза современная фармакология предлагает мелатонин и некоторые физические воздействия (яркость освещения, разные длины волн электромагнитного излучения), но действие их не всегда дает необходимый фармакологический эффект. Это также побудило в данном исследовании изучить влияние новых субстанций на изменение функциональной активности организма при длительном световом десинхронозе.

Цель и задачи исследования

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 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-1H-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 хроническое изменение светового режима имеют общие патогенетические точки взаимодействия. Аддитивность взаимодействия хронического изменения светового режима и усиления окислительного давления имеет как потенцирующий характер, отдельных случаях, проявляется частичный антагонизм, что является основой для выбора тактики фармакологических 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.

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

Автором предложена идея для исследования проблемы возможностей биологической системы в условиях изменения светового режима как основного времяздатчика, 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 и объем 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.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы приведены современные данные о структуре многоосцилляторной циркадианной системы многоклеточного организма. Рассматриваются вопросы взаимоотношений циркадианных ритмов и нетранскрипционных осцилляторов. Достаточно подробно обсуждаются вопросы осцилляций глутатиона. Освещены актуальные данные о взаимодействии гипоксии, клеточного метаболизма и циркадианных ритмов. Отдельным разделом рассматриваются методические подходы моделирования световых десинхронозов. Рассмотрены возможности фармакологической коррекции нарушений циркадианных ритмов, выделены «хронобиотики» прямого и непрямого действия.

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. Экспериментальное исследование выполнено на 1200 половозрелых крысах-самцах породы «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 (светодиодном) 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°C. 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 иных научных целей. Для моделирования светового десинхроноза 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 (Zeng L. et al., 2017)

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.

Моделирование «окислительного давления» в условиях светового десинхроноза проводили путем острого отравления тиопенталом натрия крыс массой 180-220 г в течение 1 и 3 месяцев после однократного введения нейротоксиканта в дозе LD50 внутривентрикулярно (тиопентал натрия – 85 мг/кг) (Башарин В. А., 2001).

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 разного светового режима: 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 (Капцов В.А. и др., 2021; Figueiro M.G. et al., 2013).

Для фармакологической коррекции изменений при действии светового десинхроноза животным после отравления, на следующий день 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 (Кательникова А.Е., и др., 2019; Осинцев Н.С., 2016; , Шарабанов А.В., 2017). Дозировки для введения фармакологических субстанций взяты из данных литературы (Vyunova T. V., et al, 2019; Shevchenko K.V., et al., 2014). 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. Интактным животным в те же сроки интраназально вводили физиологический раствор в дозе 100 мкл/кг массы. Животные содержались в условиях обычного освещения.

В течение проведения данного эксперимента в конце первого и третьего месяцев после отравления тиопенталом натрия в условиях светового десинхроноза 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».

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 отмывали эритроциты холодным раствором NaCl (0,9%) 3 раза, а затем центрифугировали при тех же условиях. Гемолизировали эритроциты 5 мМ трис-HCl (pH 7,6) буфером в соотношении 1:9. Далее полученный биологический материал использовался для анализа. Ткань головного мозга лабораторных животных отбирали после декапитации, замораживали и хранили до проведения

анализа при -25°C . Для определения активности ферментов ГП, ГР, Г-6-ФДГ были использованы наборы фирмы «Randox», Великобритания. Для контроля качества выполняемых методик были использованы контрольные материалы фирмы «Randox», Великобритания, для каждой методики свои контрольные материалы.

Концентрацию ВГ в гемолизате эритроцитов и цитозольной фракции исследуемых тканей и определяли с использованием 5,5'-ди-тио-бис(-2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) по методике G.L. Ellman (1959) в модификации с осаждением белка раствором сульфосалициловой кислоты. Содержание сульфгидрильных групп белков в тканях животных и в эритроцитах животных производили по методу G. Bellomo. Концентрацию МДА в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определяли по методу M. Uchiyama. В кислой среде при высокой температуре происходит взаимодействие МДА и тиобарбитуровой кислоты (ТБК) с образованием окрашенного триметинового комплекса, имеющего максимум поглощения на длине волны 532 нм. Концентрацию ТБК – продуктов рассчитывали согласно методике 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 выражали в нмоль/г Нб (или г белка). Определение концентрации ДК в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов осуществляли по методике И.Д. Стальной (1977). Определение активности глутатион-S-трансферазы в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов проводили по методу W.H. Habig и W.B. Jakoby (Habig W.H., Jakoby W.B., 1981). Концентрацию гемоглобина, общего белка, активность ферментов супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в гомогенате тканей головного мозга и гемолизате эритроцитов определяли на биохимическом анализаторе «А-25» наборы фирмы Randox (Великобритания), наборы фирмы BioSystems S.A. (Испания) для определения концентрации общего белка. Активность АСТ, АЛТ, ЛДГ, КК, ЩФ, концентрация общего белка, альбумина, мочевины, холестерина, глюкозы в плазме крови определяли на биохимическом анализаторе «А-25» наборы фирмы BioSystems S.A. (Испания). В гомогенате тканей головного мозга для определения активности ферментов энергетического обмена ЛДГ и КК также использовались наборы фирмы BioSystems S.A. (Испания).

Биохимические маркеры нейротоксичности в сыворотке крови лабораторных животных 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).

Определение концентрации катехоламинов в плазме крови методом ВЭЖХ на хроматографе «Shimadzu» с электрохимической ячейкой (Япония) (ВЭЖХ-колонка лот 5100 для анализа катехоламинов в плазме крови компании ChromSystems, Европейский Союз). 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) Расчет искомой концентрации в исследуемой пробе производится автоматически компьютерной программой, поставленной производителем. 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).

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. Содержание белка определяли на биохимическом анализаторе «А-25» наборы фирмы BioSystems S.A. (Испания). Ферментативную активность микросом выражали в мкм Фн/мг белка/час.

Методы исследования высшей нервной деятельности

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

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 или нет, есть освещение или нет). Метод двухфакторного дисперсионного анализа позволяет оценить влияние каждого из контролируемых факторов (А и В), их взаимодействия, и случайные факторы на маркерные показатели выраженности патологических процессов. Мерой такого влияния рассматривается коэффициент (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 аддитивности взаимодействия на основе среднегрупповых данных рассчитываются значения эффектов воздействия факторов А и В, и эффект совместного их взаимодействия (А*В). 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 (Оковитый С.В. и др., 2019).

Моделирование хронического 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 собирался 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 (Halberg F., 1990) и подробно описанный в работах В.П. Карп, Г.С. Катинас (Карп В.П., Катинас Г.С., 1989). 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) (Корягина Ю.В., 2006). По параметрам эллипса программа рассчитывает и выдает доверительные интервалы для мезора (h), амплитуды (A) и акрофазы (Phi).

На основе полученных данных для животных из групп с измененным световым режимом методом косинор-анализа также были построены эллипсы рассеивания для 24 часовой гармоника по тем же 10 биохимическим показателям. Эллипсы по показателям белкового и углеводного обмена 24 часовой гармоника 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 1 и 2).

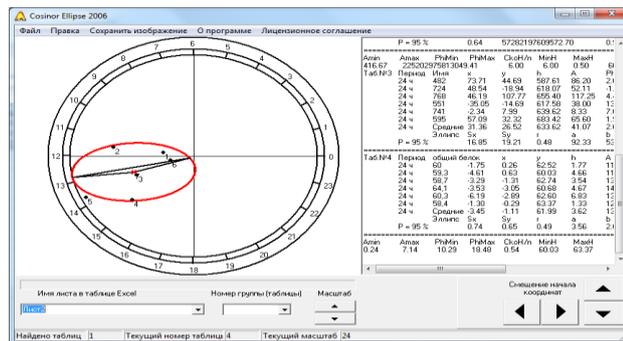


Рисунок 1 – Окно программы Cosinor Ellipse 2006 с результатами анализа 24 часовой гармоника (на примере показателя «общий белок сыворотки крови» у животных из группы с естественным освещением)

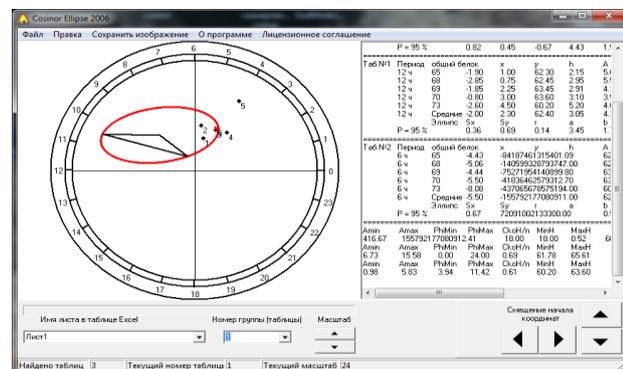


Рисунок 2 – Окно программы Cosinor Ellipse 2006 с результатами анализа 24 часовой гармоника (на примере показателя «общий белок сыворотки крови» у животных из групп с измененным режимом освещения)

Ритмическая организация биохимических показателей сыворотки крыс при хроническом 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), аспартатаминотрансферазы (АСТ) и щелочная фосфатаза (ЩФ), глюкоза, общий холестерин, мочевины, креатинин, общий билирубин.

На основании косинор-анализа было выявлено смещение акрофаз мезоров ряда биохимических показателей. Для постоянного освещения это отразилось на показателях глюкозы, холестерина, общего белка. При постоянной темноте был зарегистрирован ультрадианный 12-ти часовой достоверный ритм общего белка сыворотки крови с акрофазой мезорного значения общего белка в 3.20. Увеличилась амплитуда мезоров у 7 показателей по сравнению с группой обычное освещение. При этом акрофазы мезоров большинства показателей не выявлены. 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 крысах как экспериментальных животных в условиях изменения светового режима методом косинор-анализа доказано развитие светового десинхроноза за счет сдвига акрофазы ряда биохимических показателей сыворотки крови. Данная модель может быть использована для изучения функционального состояния организма при хроническом световом десинхронозе и способы его фармакологической коррекции.

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ БИОХИМИЧЕСКИХ И ПОВЕДЕНЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО СВЕТОВОГО ДЕСИНХРОНОЗА

Показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гемолизате эритроцитов крыс на фоне «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза через 1 месяц эксперимента

Проведенное экспериментальное исследование позволило установить, что через 1 месяц изменения светового режима в гемолизате эритроцитов 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» (таблица 1).

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

Показатели (M ± 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≤0.05) # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни (p≤0.05)

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≤0,05). В группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» активность ГТ снижается на 24,3% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» и на 37,1% по сравнению с группой «обычное освещение» (p≤0,05). В тоже время активность синергичного фермента ГП изменяется разнонаправлено: в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» снижается на 16,2% (p≤0,05), а в группе «постоянная темнота +тиопентал натрия» повышается на 11,7 % (p≤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≤0,05). Концентрация диеновых конъюгат (ДК) в группах отравленных животных при измененном световом режиме остаются повышенными: на 36,8 % (постоянное освещение) и на 57,9% (постоянная темнота) по сравнению с группой «обычное освещение». При сравнении с группой «обычное освещение+тиопентал натрия» концентрации ДК и МДА в гемолизате проб в группе при постоянном освещении достоверно снижены на 13,3 % и на 17,4 % соответственно (таблица 1).

Показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крыс на фоне «окислительного давления» и изменения светового режима через 3 месяца эксперимента

Через 3 месяца после острого однократного отравления тиопенталом натрия и изменения светового режима концентрация редокс-активных метаболитов в гемолизате эритроцитов остается высокой по сравнению с обычным освещением. 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≤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≤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» ($p \leq 0,05$) (таблица 2).

Таблица 2 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гемолизате эритроцитов крысы на фоне «окислительного давления» при обычном освещении и измененном световом режиме через 3 месяца эксперимента

Показатели ($M \pm m$)	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 ($p \leq 0,05$)

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» ($p \leq 0,05$) (таблица 2).

Также в группах с измененным световым режимом выявлено достоверное снижение активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, по сравнению со значениями показателей из группы обычное освещение. Тиолы (-SH) являются одними из самых чувствительных функциональных групп для модификации химическими веществами. Снижение концентрации ВГ может быть связано с истощением запасов данного трипептида в эритроцитах вследствие снижения его синтеза de novo, деформацией обмена окисленного и восстановленного глутатиона между внутриклеточным и межклеточным пространством, соответственно, снижение возможностей его рециклизации, так как это требует затрат АТФ. Основным ферментом, поддерживающим редокс-гомеостаз глутатиона, является НАДФ⁺ - зависимая глутатионредуктаза. Концентрация НАДФ⁺ и его восстановленной формы в эритроцитах зависит от активности глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, фермента пентозофосфатного цикла, который проявил снижение активности. 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. Таким образом, хронический световой десинхроноз способствует увеличению концентрации электрофильных соединений, нарушению тиоловой буферной системы в эритроцитах крови крыс, что влияет на ритмическую активность периферических осцилляторов.

Для исследования сочетанного воздействия на организм двух факторов, «окислительного давления» и хронического светового десинхроноза, проводился двухфакторный дисперсионный анализ, позволяющий количественно определить вклад каждого фактора по отдельности, их взаимодействия и неконтролируемые факторы. Сопоставление значений факторов детерминации между группами, показало, что контролируемые факторы (отравление тиопенталом натрия в дозе LD50 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). Через 3 месяца эксперимента количество показателей, проявляющих эффект взаимодействия сокращается. Наиболее существенно в группе постоянное освещение вклад ГТ больше (ФД = 0,236).

Результаты оценки аддитивности выявленных показателей взаимодействия двух независимых патологических процессов при одновременном их моделировании подтверждают, что световой десинхроноз на фоне «окислительного давления» потенцирует выраженность некоторых показателей при хроническом 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. При хроническом световом десинхронозе этот путь катаболизма альдегидов становится малодоступным, что приводит к нарушению электрофильной сигнализации в эритроцитах.

Показатели антиоксидантной системы и перекисного окисления липидов в гомогенате тканей мозга крыс на фоне «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза через 1 месяц эксперимента

Через 1 месяц после отравления тиопенталом натрия в гомогенате тканей мозга животных, находившихся при обычном световом режиме, концентрация ДК увеличилась на 2,9% по сравнению с группой контрольных животных ($p \leq 0,05$) (таблица 3). 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 выраженно: 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» ($p \leq 0,05$).

Таблица 3 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс на фоне «окислительного давления» при обычном освещении и измененном световом режиме через 1 месяц

Показатели (M ± m)	Экспериментальные группы			
	обычное освещение (контроль)	обычное освещение + тиопентал натрия	постоянное освещение + тиопентал натрия	постоянная темнота + тиопентал натрия
ВГ, мкмоль/gP	1,87±0,15	1,84±0,1	1,81±0,06	2,17±0,07
ДК, нмоль/gP	108,2±1,0	111,3±0,9*	116,6±1,6*#	100,8±0,8*#^
МДА, нмоль/gP	194,5±4,1	230,8±7,5*	248,3±2,1*	240,9±8,8*
ГТ, U/gP	356,1±5,9	300,5±6,9*	223,6±14,1*#	233,0±12,8*#
СОД, U/gP	73,1±4,3	67,8±4,3	89,7±3,6*#	92,9±3,8*#
ГП, U/gP	2,03±0,07	2,18±0,04*	1,95±0,03#	1,67±0,07*#^
ГР, U/gP	3,1±0,8	3,2±0,8	4,6±1,1	3,9±0,5
Г-6-ФДГ, U/gP	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≤0.05) # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни (p≤0.05) ^ - достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни (p≤0.05)

Активность СОД повышалась на 32,3% (p≤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≤0,05). В группах при окислительном давлении 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≤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-6-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≤0,05).

Показатели АОС и ПОЛ в гомогенате тканей головного мозга крыс на фоне «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза через 3 месяца эксперимента

В результате проведенного исследования установлено, что через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия концентрация ДК в гомогенате тканей мозга в группе «обычное освещение+ тиопентал натрия» увеличилась на 6,1% (p≤0,05) по сравнению с показателем из контрольной группы (таблица 4). Концентрация МДА в данной группе повышалась на 32,4% по сравнению с контрольной группой (p≤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≤0,05).

Таблица 4 – Показатели АОС и процессов ПОЛ в гомогенате тканей мозга крыс на фоне «окислительного давления» при обычном освещении и измененном световом режиме через 3 месяца

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<0,05) # – достоверное отличие по сравнению с группой «обычное освещение+ тиопентал натрия», критерий Манна-Уитни (p<0,05) ^ – достоверное отличие между группами с измененным световым режимом, критерий Манна-Уитни (p<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≤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≤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≤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≤0,05). Отмечалось достоверное повышение на 25,4% активности фермента в группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» по сравнению с группой «постоянное освещение+тиопентал натрия».

При сопоставлении значений факторов детерминации, определенных двухфакторным дисперсионным анализом, через 1 месяц эксперимента увеличивается вклад в развитие патологических процессов показателей МДА и Г-6-ФДГ. Через 3 месяца эксперимента вклад фактора А («окислительное давление») в эффект последствий острого отравления 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 на фоне «окислительного давления» на концентрацию ДК в тканях мозга (ФД=0,436). При постоянной темноте через 3 месяца вклад фактора А («окислительное давление») проявился в активности фермента ГТ (ФД=0,277). Примерно одинаковое влияние «окислительное давление» оказало на показатели ВГ (ФД=0,246) и МДА (ФД=0,224). Вклад фактора В (освещение) значительно

проявился на активности Г-6-ФДГ (ФД=0,689) и ГП (ФД=0,639). Эффект взаимодействия двух факторов достоверно проявился при постоянной темноте на показателе МДА (ФД=0,461) и на активности ГТ (ФД=0,408).

Отчетливое потенцирующее действие хронического светового десинхроноза выявлено для показателей активности 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 хронического светового десинхроноза выявлено потенцирование для показателей МДА и ГТ. 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 деятельности центральной нервной системы, в целом, для адаптации к изменениям внешней среды.

Изучение показателей энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови крыс на фоне «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза

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

В результате проведенного исследования установлено, что на фоне «окислительного давления» через 1 месяц светового десинхроноза 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 5). Активность ЛДГ в этой группе животных достоверно повысилась на 16,9% по сравнению с группой «обычное освещение». Концентрация НIF1 α 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 НIF1 α 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» ($p \leq 0,05$).

Через 1 месяц после острого однократного отравления тиопенталом натрия в условиях измененного светового режима дефицит кислорода в тканях головного мозга способствует достоверному увеличению общей активности креатинкиназы.

Таблица 5 – Показатели энергетического обмена на фоне «окислительного давления» и изменения светового режима через 1 месяц эксперимента

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)

Показатели энергетического обмена в тканях головного мозга и в плазме крови на фоне «окислительного давления» в условиях изменения светового режима через 3 месяца эксперимента

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 6). 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 отравления тиопенталом натрия 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≤0,05). Концентрация НIF1α 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≤0,05).

Выявленные изменения энергетического обмена в условиях окислительного давления через 3 месяца условий 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. Двухфакторный дисперсионный анализ показал, что эффект от изменения режима освещения на фоне «окислительного давления» примерно одинаково проявляется на показателях энергетического обмена. Через 1 месяц изменения режима освещения вклад в

развитие последствий такого воздействия вносит фактор HIF1 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.

Таблица 6 – Показатели энергетического обмена на фоне «окислительного давления» и изменения светового режима через 3 месяца эксперимента

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)				

Изменения в энергетическом обмене клеток способствует существенным изменениям в циркадианных ритмах в клетках и наоборот. Выявлено, что секреция периферических катехоламинов в плазму крови меняется в зависимости от режима освещения. Это свидетельствует о вовлечении периферических катехоламинов в реализацию последствий такого воздействия. В плазме крови значительно снизилась концентрация дофамина через 1 месяц исследования, наиболее выражено при постоянной темноте. Через 3 месяца длительного светового десинхроноза и «окислительного давления» уровень дофамина в плазме крови значительно возрастает при сравнении со значениями показателя без отравления. Через 3 месяца воздействия светового на фоне «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%), в группе с постоянной темнотой концентрация норадреналина понизилась на 55,3% по сравнению с контрольной группой. Концентрация адреналина в группе отравленных животных «постоянное освещение» достоверно понизилась на 53,6%, группе с постоянной темнотой концентрация адреналина значимо понизилась на 56,3% по сравнению с контрольной группой. В случае «окислительного давления» наибольшую вариабельность обнаруживает концентрация дофамина в плазме крови.

Содержание нейротрофических маркеров в плазме крови крыс на фоне «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза

Нейротрофические факторы сопряжены с любым проявлением функциональной активности нервной системы, как в норме, так и при патологии. Нейротрофические факторы

стимулируют или тормозят синтез нейромедиаторов, влияя тем самым 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 (Воронина, Т.А. и др., 2007; Гомазков, О. А. и др., 2013). MBP – протеолипидная белковая фракция, взаимодействует с белками цитоскелета, влияя на их комплектацию и полимеризацию. При повреждении нервной ткани разрушение миелина является универсальным механизмом реакции нервной ткани. При повреждении нервной ткани повреждается функция гематоэнцефалического барьера, что сопровождается повышением концентрации MBP 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. Доказана возможность применения NSE как клинико-диагностического критерия оценки степени повреждения нейронов головного мозга при деструктивных заболеваниях центральной нервной системы (Чехонин В. П. и др., 2000). GFAP – специфический для мозга астроглиальный белок быстро высвобождается при остром повреждении клеток, некрозе, так как является промежуточной нитью типа III, которая экспрессируется многими типами клеток ЦНС, в первую очередь астроцитами. GFAP играет важную роль в восстановлении нервной ткани после травмы ЦНС, формируя глиальные рубцы. GFAP также принимает участие в развитии аутоиммунных реакций и в нейровоспалении (O'Callaghan J.P. et al., 2005). Нейротрофический фактор мозга BDNF влияет на регуляцию стабильного взаимодействия нейронов, синаптической пластичности и консолидации долговременной памяти. Данный фактор проявляет как защитные, так и адаптогенные свойства в регуляции деятельности мозга. PEDF – фактор дифференцировки из пигментного эпителия являясь гликопротеином, стимулирует дифференцировку клеток ретинобластомы в нейроны, потенцирует рост и жизнеспособность фоторецепторных клеток и нейронов ЦНС, защищает нейрональные клетки от апоптоза, ингибитор ангиогенеза. Белок S-100, связывающий кальций, в больших количествах содержится в астроцитарной глии. Белок связывает ионы кальция и за счет чего выполняет регуляторную функцию в процессах пролиферации астроцитов и регенерации нервных клеток. Через изменение потоков кальция может индуцировать апоптоз. Участие кальция во многих жизненно важных процессах в клетке, способствует многомодальности функций белка S-100 (Selinfreud R.H. et al., 2005).

В случае изменения светового режима в сочетании с отравлением тиопенталом натрия через 1 месяц концентрация MBP достоверно увеличилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 30,6 %, по сравнению с группой «обычное освещение +тиопентал натрия». 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 увеличилась 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».

Через 3 месяца светового десинхронизации после однократного острого отравления тиопенталом натрия в условиях обычного освещения достоверных изменений содержания нейротрофических маркеров в плазме крови подопытных животных не наблюдалось. В случае изменения светового режима концентрация NSE достоверно снизилась в группе «постоянное освещение+тиопентал натрия» на 18,6% по сравнению с группой «обычное освещение+тиопентал натрия». В группе «постоянная темнота+тиопентал натрия» концентрация NSE достоверно снизилась 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 увеличилась 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. Эти 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.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что через 1 месяц при постоянном освещении вклад фактора А («окислительное давление») в эффект последствий острого отравления 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 в развитие последствий на показателях нейротрофических маркеров не выявлено. При постоянной темноте наблюдается аналогичная ситуация. Вклад фактора А существенно выше в развитие неблагоприятных последствий после однократного отравления и 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). Эффект взаимодействия двух факторов проявился на показателе PEDF при постоянной темноте (ФД=0,205). Через 3 месяца при постоянном освещении вклад фактора А («окислительное давление») в эффект последствий острого отравления значительно проявился в концентрации NSE (ФД=0,142), S-100 (ФД=0,293) в тканях головного мозга. Возросла роль фактора В (освещение) в тканях головного мозга в развитие последствий и проявился на показателе NSE (ФД=0,343). 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 вклада NSE (ФД=0,269), PEDF (ФД=0,223) и MBP (ФД=0,177). Эффект взаимодействия двух факторов через 3 месяца светового десинхроноза не проявился ни на одном показателе, в отличие от результатов исследования через 1 месяц. Оценка аддитивности 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.

Исследование поведенческой активности крыс

при «окислительном давлении» в условиях хронического 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. Изучение поведения лабораторных животных в тесте «Открытое поле» через 1 месяц светового десинхроноза в условиях «окислительного давления» выявило достоверное снижение горизонтальных перемещений крыс на 26,9%, вертикальных стое на 27,8% по сравнению с группой «обычное освещение». 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 (Мамылина Н.В., 1996). 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 («окислительное давление») в эффект последствий 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 ($F_D=0,108$). Воздействие фактора А при постоянной темноте 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 проявилось на горизонтальных перемещениях животных на площадке ($F_D=0,105$). Эффект взаимодействия двух факторов через 1 месяц исследования не проявился в изучаемых показателях теста «Открытое поле». Через 3 месяца исследования эффект последствий «окислительного давления» и хронического светового десинхроноза проявился на показателях теста «Открытого поля» на значительном количестве изучаемых показателей в режиме постоянного освещения. 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 ($F_D=0,385$), на общей двигательной активности крыс ($F_D=0,345$) и на их активности по периферии площадки ($F_D=0,330$). При постоянной темноте через 3 месяца эксперимента эффект взаимодействия факторов не проявился, каждый фактор по-отдельности повлиял на поведенческие показатели животных в данном тесте. Последствия окислительного давления оказали влияние на количество вертикальных стоек животных ($F_D=0,141$), общую двигательную активность ($F_D=0,123$) и двигательную активность животных по периферии площадки ($F_D=0,104$). При этом фактор хронического светового десинхроноза значительно повлиял на двигательную активность крыс в тесте «Открытое поле», особенно при депривации освещения.

**Исследование когнитивных функций крыс
при «окислительном давлении» в условиях хронического светового десинхроноза**

Исследование когнитивных функций в тесте «условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) выявило, что через 1 месяц эксперимента 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. Через 3 месяца 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. Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что существенное влияние на показатели теста УРПИ через 1 и 3 месяца исследования оказывает режим освещения. Так, через 1 месяц наиболее чувствительным к постоянному освещению оказался показатель времени нахождения в темной камере через 24 часа после обучения ($F_D=0,113$). При отсутствии освещения чувствительность проявил показатель латентного периода первого захода в темный отсек ($F_D=0,196$). 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 ($F_D=0,115$) и время латентного периода захода в темный отсек через 24 часа ($F_D=0,125$). В условиях постоянной темноты показатель теста УРПИ – время нахождения в светлом отсеке через 2 часа после обучения проявил чувствительность к изменению режима освещения ($F_D=0,104$). Также обращает внимание факт, что именно в режиме постоянной темноты через 3 месяца проявился эффект взаимодействия двух факторов а именно: время латентного периода захода в темный отсек через 24 часа ($F_D=0,114$), время нахождения в светлом отсеке через 24 часа после обучения ($F_D=0,145$) и время нахождения в темном отсеке через 24 часа после обучения ($F_D=0,145$).

Таким образом, качественные и количественные изменения исследуемых когнитивных показателей свидетельствуют о нарушениях высшей нервной деятельности как последствия «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза и 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 свидетельствует о нарастании тревожности и страха животных, что обусловлено неспецифической оборонительной реакцией замирания. Данная реакция является фундаментальным свойством живого организма, обеспечивающая мобилизацию ресурсов (энергетических) для выживания и сохранения целостности организма. Древние формы поведения (геномные), характерные для конкретного организма и память, сформировавшиеся 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 (Загускин С.Л., 2010; Карманова И.Г., 1994).

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-ДГ. 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 процессов нейродеструкции. Биохимические изменения между осцилляторами различных уровней циркадианной системы проявляются в нарушении двигательной реакции, эмоциональной активности и в когнитивных навыках 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.

ИЗУЧЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ СПЕЦИФИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ СРЕДСТВ КОРРЕКЦИИ ХРОНИЧЕСКОГО 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. Изменение баланса АФК вследствие светового десинхронизма приводит к развитию состояния гипоксии в тканях мозга, усиливается ПОЛ липидов 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 (Banerji T.K., 1996; Le Minh N., 2001; McEwen B.S., 2005). 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 (Antoch M.P., 2013). Многие традиционные анксиолитики бензодиазепинового ряда

отрицательно воздействуют на моторику и память (Арушанян Э.Б., 2006). 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 (Herring W.J., 2012; Mehr J.V., 2021). 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 (Ашмарин И. П., 2006). 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 (Кательникова А.Е., 2019).

Фармакологическая коррекция показателей АОС и ПОЛ в гемоллизате эритроцитов крыс в условиях хронического светового десинхроноза

Результаты фармакологической коррекции показателей АОС и ПОЛ в гемоллизате эритроцитов крыс на фоне «окислительного давления» в условиях хронического светового десинхроноза через 1 месяц эксперимента

В качестве новых фармакологических средств коррекции в проведенном исследовании были использованы: KSE-02 - сукциноильное производное мелатонина (3-(2-(5-метокси-1Н-3-индолил)этилкарбамоил)-пропановая кислота, мелатонин как препарат сравнения, и 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.

Применение данных субстанций способствовало следующим эффектам в гемоллизате эритроцитов:

1) Уменьшению количества образования ДК и МДА в гемоллизате эритроцитов, как через 1 месяц, так и через 3 месяца светового десинхроноза. Наиболее благоприятный эффект оказал пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя (рис. 3).

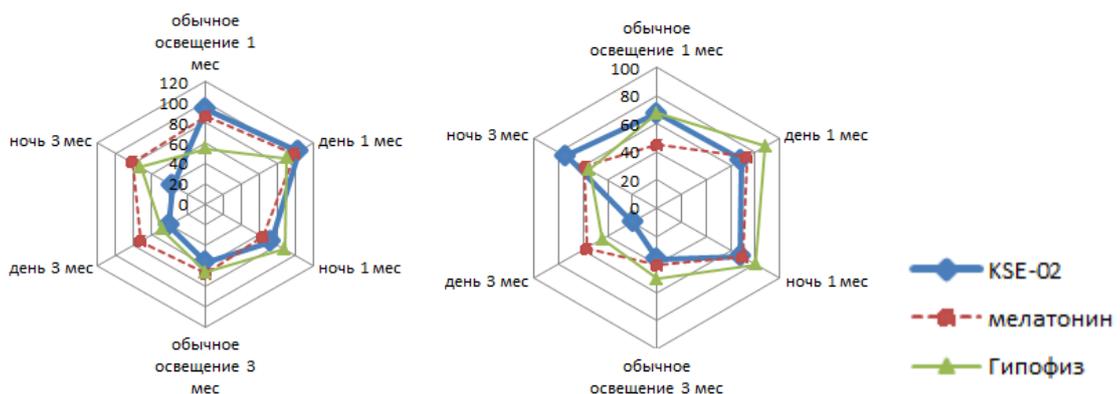


Рисунок 3 – Влияние фармакологической коррекции на концентрацию МДА (слева) и ДК (справа) в гемоллизате эритроцитов через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

2) Повышению активности СОД в гемоллизате эритроцитов через 1 месяц светового десинхроноза. Максимальное увеличение активности фермента выявлено при постоянной темноте под воздействием всех трех субстанций. Через 3 месяца активность СОД повысилась под влиянием мелатонина и пептидного экстракта гипофиза Северного оленя (рис. 4).

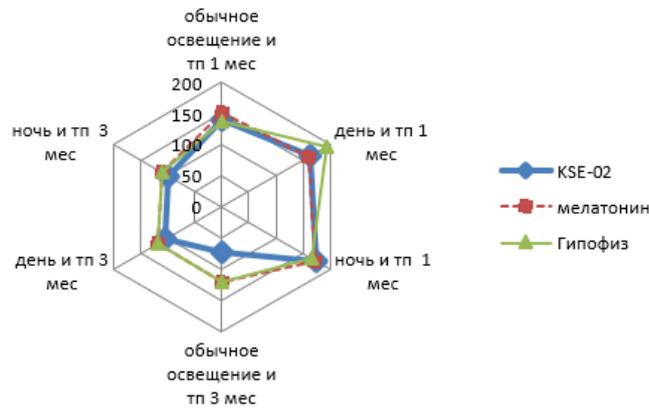


Рисунок 4 – Влияние фармакологической коррекции на активность СОД в гемолизате эритроцитов через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

3) Повышению концентрации ВГ в гемолизате эритроцитов как через 1 месяц, так и через 3 месяца светового десинхроноза. Максимальное повышение концентрации выявлено при постоянном освещении через 1 месяц эксперимента под влиянием всех трех субстанций (на 55-58 %) по сравнению с контрольной группой (рис. 5).

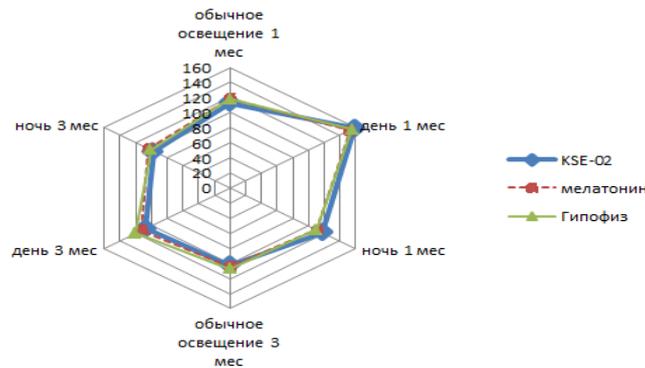


Рисунок 5 – Влияние фармакологической коррекции на концентрацию ВГ в гемолизате эритроцитов через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

4) Повышению активности фермента Г-6-ФДГ, необходимого для восстановления пула ВГ. Через 1 месяц десинхроноза активность фермента имеет максимальную активность при постоянном освещении при фармакологической коррекции всеми тремя субстанциями. Через 3 месяца эксперимента выявлена максимальная активность фермента при постоянном освещении при фармакоррекции мелатонином и пептидным экстрактом из гипофиза Северного оленя (почти в 2 раза по сравнению с контрольной группой) (рис. 6).

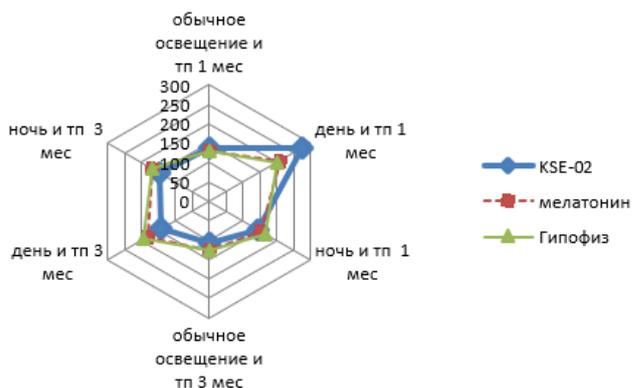


Рисунок 6 – Влияние фармакологической коррекции на активность Г-6-ФДГ в гемолизате эритроцитов через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

5) Повышению активности фермента ГТ, особенно через 1 месяц светового десинхроноза (на 50 % до 81 % выше значений контрольной группы) (рис.7).

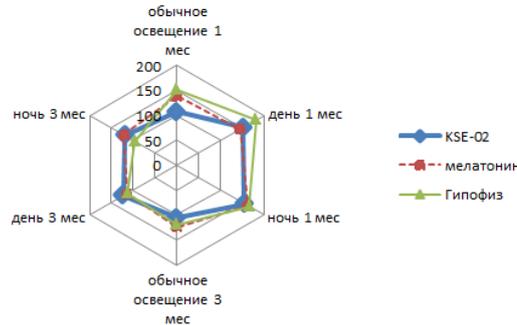


Рисунок 7 – Влияние фармакологической коррекции на активность ГТ в гемолизате эритроцитов через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

Полученные результаты были проанализированы двухфакторным дисперсионным анализом. Согласно факторам детерминации (ФД) через 1 месяц светового десинхроноза влияние соединений фармакологической коррекции в дозе 100 мкг/кг интраназально в течение первых 14 дней на фоне окислительного давления на показатели АОС и ПОЛ в гемолизате эритроцитов значительное. Так, при постоянном освещении воздействие экспериментальных субстанций в изменение активности АОС наиболее весомо проявилось на активности фермента СОД по сравнению с остальными участниками этой системы. Так, факторы детерминации при использовании KSE-02 составили $\Phi\text{Д}=0,639$, мелатонина – $\Phi\text{Д}=0,621$, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – $\Phi\text{Д}=0,776$. Далее влияние средств фармакологической коррекции выявлено на разные показатели АОС. При применении KSE-02 фактор детерминации Г-6-ФДГ составил 0,534, мелатонина – фактор детерминации ВГ равен 0,605. Пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя повлиял на значение факторов детерминации ВГ ($\Phi\text{Д}=0,584$) и ГТ ($\Phi\text{Д}=0,568$). Эффект взаимодействия проявился под влиянием всех 3 субстанций на показателе восстановленного глутатиона. При постоянной темноте воздействие экспериментальных субстанций на изменение активности АОС также значительно проявилось на показателе СОД. Так, факторы детерминации при использовании KSE-02 составили $\Phi\text{Д}=0,693$, мелатонина – $\Phi\text{Д}=0,782$. Применение пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя более весомое влияние оказало на показатель ГТ – $\Phi\text{Д}=0,532$. Эффект взаимодействия фармакологического агента и светового фактора проявился при использовании KSE-02 и мелатонина.

Фактор освещения при использовании всех 3 веществ значительно влияет на показатель диеновых конъюгат в гемолизате эритроцитов, что свидетельствует о реагировании молекул с сопряженными связями на изменение светового режима.

Через 3 месяца эксперимента двухфакторный дисперсионный анализ выявил эффект влияния экспериментальных субстанций на показатели ПОЛ. Длительное изменение светового режима изменяет процессы пероксидации липидов мембран эритроцитов. При постоянном освещении при использовании KSE-02 фактор детерминации показателя ДК ($\Phi\text{Д}=0,209$) и при использовании мелатонина фактор детерминации ДК ($\Phi\text{Д}=0,407$), пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя ДК ($\Phi\text{Д}=0,503$). Фактор освещения (3 месяца светового десинхроноза) также оказывает существенный эффект этот показатель (согласно факторам детерминации) и показатель активности ГТ. Эффект взаимодействия (коррекции и светового режима) при постоянном освещении проявился только при использовании KSE-02 на показателе ГТ ($\Phi\text{Д}=0,413$). При постоянной темноте применение фармакологической коррекции оказывает значительное воздействие на показатели ПОЛ. Весомый эффект оказывает применение мелатонина и пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя, так как снижается концентрация МДА и ДК, но также возрастает активность ферментов ГР, ГТ и Г-6-

ФДГ. Согласно факторам детерминации максимальный эффект взаимодействия выявлен при применении KSE-02 по показателю ГТ ($\Phi Д=0,958$), при использовании мелатонина – ГТ ($\Phi Д=0,237$), пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя ГП ($\Phi Д=0,306$).

Исследованные субстанции в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении проявили антиоксидантную, хронобиотическую активность в гемолизате эритроцитов в разных режимах освещения. Выделяется их действие на показатель ВГ через 1 месяц, и на активность ГТ, ГП через 3 месяца светового десинхроноза.

Фармакологическая коррекция показателей АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс в условиях хронического светового десинхроноза

Применение данных субстанций способствовало следующим эффектам в тканях головного мозга крыс:

1) Уменьшению количества образования МДА в тканях головного мозга крыс, как через 1 месяц, так и через 3 месяца светового десинхроноза. Эффект оказали все три экспериментальные субстанции (рис. 8)

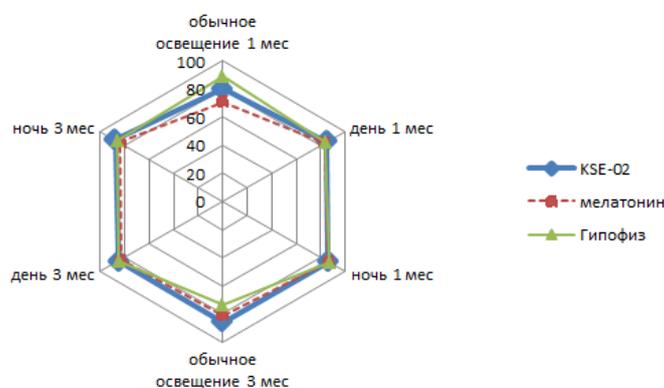


Рисунок 8 – Влияние фармакологической коррекции на концентрацию МДА в тканях головного мозга крыс через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

2) Повышению активности ГР в тканях мозга крыс через 1 месяц светового десинхроноза. При полярных режимах освещения выявлено максимальное увеличение активности фермента при применении KSE-02. Через 3 месяца активность фермента снизилась под влиянием всех трех субстанций (рис. 9).

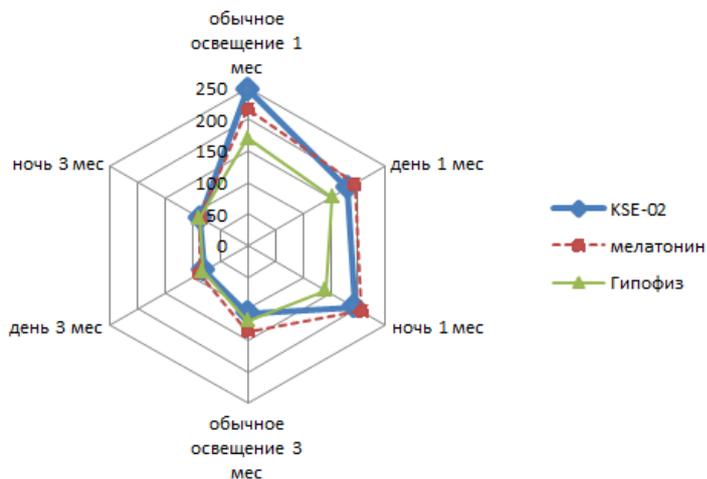


Рисунок 9 – Влияние фармакологической коррекции на активность ГР в тканях головного мозга крыс через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

3) Повышению активности фермента Г-6-ФДГ как через 1 месяц, так и через 3 месяца

светового десинхроноза (рис. 10). Фармакологическую активность проявили все три субстанции

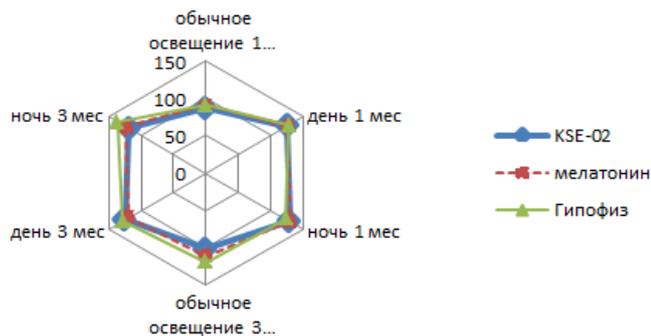


Рисунок 10 – Влияние фармакологической коррекции на активность Г-6-ФДГ в тканях головного мозга крыс через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

Полученные результаты были проанализированы двухфакторным дисперсионным анализом. Согласно факторам детерминации через 1 месяц светового десинхроноза влияние соединений фармакологической коррекции в дозе 100 мкг/кг интраназально в течение первых 14 дней на фоне окислительного давления на показатели АОС и ПОЛ в тканях головного мозга крыс значительно. Так, при постоянном освещении воздействие экспериментальных субстанций в изменение активности АОС наиболее весомо проявилось на активности фермента ГР по сравнению с остальными участниками этой системы. Так, факторы детерминации при использовании KSE-02 составили $\Phi\text{Д}=0,912$, мелатонина – $\Phi\text{Д}=0,516$, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – $\Phi\text{Д}=0,688$. Далее влияние средств фармакологической коррекции выявлено на разные показатели АОС. При применении KSE-02 фактор детерминации МДА составил 0,505, мелатонина – фактор детерминации МДА равен 0,536, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя МДА ($\Phi\text{Д}=0,511$). Эффект взаимодействия проявился под влиянием всех 3 субстанций на показателе активности Г-6-ФДГ. При постоянной темноте воздействие экспериментальных субстанций на изменение активности АОС также значительно проявилось на показателе ГР. Так, факторы детерминации при использовании KSE-02 составили $\Phi\text{Д}=0,905$, мелатонина – $\Phi\text{Д}=0,566$, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя $\Phi\text{Д}=0,720$. Эффект взаимодействия фармакологического агента и светового фактора проявился при использовании всех трех субстанций на показателях ДК, Г-6-ФДГ и ВГ.

Фактор освещения при использовании всех 3 веществ значительно влияет на показатели ДК, МДА в тканях головного мозга крыс, что свидетельствует о реакции молекул с сопряженными связями на изменение светового режима и активности ПОЛ.

Через 3 месяца эксперимента двухфакторный дисперсионный анализ выявил значительное влияние экспериментальных субстанций на показатели ПОЛ. Длительное изменение светового режима изменяет процессы пероксидации липидов в тканях головного мозга крыс. При постоянном освещении при использовании KSE-02 фактор детерминации показателя ДК ($\Phi\text{Д}=0,535$), при использовании мелатонина фактор детерминации ДК ($\Phi\text{Д}=0,733$), МДА ($\Phi\text{Д}=0,800$), пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя ДК ($\Phi\text{Д}=0,409$), МДА ($\Phi\text{Д}=0,593$). Эффект взаимодействия двух факторов при постоянном освещении проявился при использовании всех трех субстанций на показателе ГР, но максимальный эффект взаимодействия выявлен при использовании пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя, $\Phi\text{Д}=0,358$. При постоянной темноте применение фармакологической коррекции оказывает значительное воздействие на показатели ПОЛ. Весомый эффект оказывает применение мелатонина и пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя. Согласно факторам детерминации эффект взаимодействия выявлен при применении мелатонина и пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя по показателю ГР, ($\Phi\text{Д}=0,299$) и ($\Phi\text{Д}=0,187$) соответственно.

Исследованные субстанции в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении проявили

антиоксидантную, хронобиотическую активность в тканях головного мозга крыс в разных режимах освещения. Выделяется их действие на показатель ВГ и систему восполнения его запасов (активность Г-6-ФДГ и ГР). Весомое влияние оказывается на процессы ПОЛ, снижая стрессовое воздействие длительного нарушения светового режима.

Активность ферментов энергетического обмена в головном мозге и в плазме крови крыс в условиях хронического светового десинхрониза при фармакологической коррекции

Через 1 месяц изменения светового режима на постоянное освещение после отравления тиопенталом натрия активность креатинкиназы в головном мозге крыс достоверно увеличилась на 13,9 % по сравнению с интактной группой. Применение фармакологической субстанции KSE-02 достоверно снизило активность фермента на 9,9 %, мелатонина – на 8,5 % по сравнению с контрольной группой. Через 3 месяца постоянного освещения после острого однократного отравления тиопенталом натрия активность КК в головном мозге крыс контрольной группы достоверно повысилась на 11,8 % по сравнению с интактной группой. Применение мелатонина достоверно повышает активность КК в головном мозге на 10,3 % по сравнению с контрольной группой. Через 1 месяц постоянной темноты после отравления тиопенталом натрия активность КК в головном мозге крыс при применении KSE-02 достоверно снизилась на 12,5 %, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – на 8,4 % по сравнению с контрольной группой. При постоянной темноте в течение 3 месяцев после острого однократного отравления тиопенталом натрия активность КК в головном мозге крыс при использовании фармакологических субстанций повышается. Применение KSE-02 повысило активность фермента на 13,1 %, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – на 8,8 % по сравнению с контрольной группой.

Применение KSE-02 достоверно снизило активность фермента ЛДГ на 28,7 %, мелатонина - на 25,4 %, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 23,3 % по сравнению с контрольной группой через 1 месяц постоянного освещения. Через 3 месяца постоянного освещения активность ЛДГ при использовании KSE-02 достоверно повысилась на 35,6 %, мелатонина - на 39,2 % по сравнению с контрольной группой. Через 1 месяц постоянной темноты применение KSE-02 достоверно снизило активность фермента ЛДГ на 14,2 %, пептидного экстракта гипофиза Северного оленя – на 15,1 % по сравнению с контрольной группой. Активность ЛДГ через 3 месяца постоянной темноты достоверно повышается при фармакологической коррекции KSE-02 на 19,9 % по сравнению с контрольной группой (рис.11).

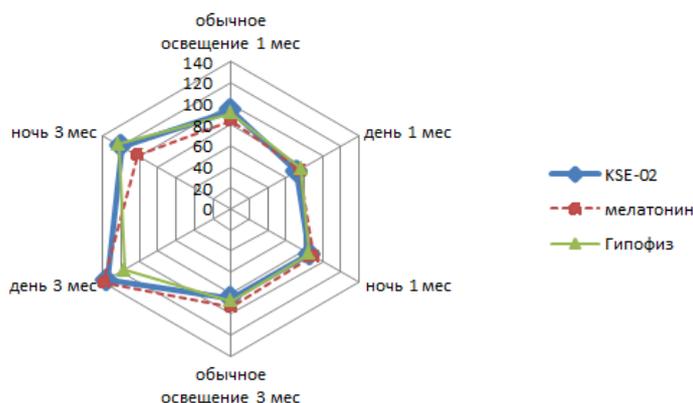


Рисунок 11 – Влияние фармакологической коррекции на активность ЛДГ в тканях головного мозга крыс через 1 и 3 месяца светового десинхрониза.

Одновременно в плазме крови методом ИФА через 1 месяц при простоянном освещении было обнаружено достоверное понижение концентрации HIF1 α при применении KSE-02 на 31,4 %, мелатонина – на 41,4 %, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – на 34,2 % по сравнению с контрольной группой. Активность фермента ФЕПКК также снизилась при

использовании KSE-02 - на 73,0 %, мелатонина – на 72,3 %, пептидного экстракта гипофиза - на 74,2 % по сравнению с контрольной группой. При постоянной темноте через 1 месяц в плазме крови методом ИФА было обнаружено достоверное понижение концентрации HIF1 α при применении KSE-02 - на 12,0 %, мелатонина – на 16,0 %, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – на 20,4 % по сравнению с контрольной группой.

Через 3 месяца при постоянном освещении было обнаружено, что использование субстратов фармакологической коррекции достоверно понизило концентрацию HIF1 α в плазме крови. Так применение KSE-02 снизило на 21,4 %, мелатонина – на 17,9 %, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – на 14,3 % по сравнению с контрольной группой. При постоянной темноте фармакологическая коррекция KSE-02 также достоверно понизила концентрацию HIF1 α на 13,0 %, пептидным экстрактом из гипофиза Северного оленя – на 13,8 % по сравнению с контрольной группой (рис.12).

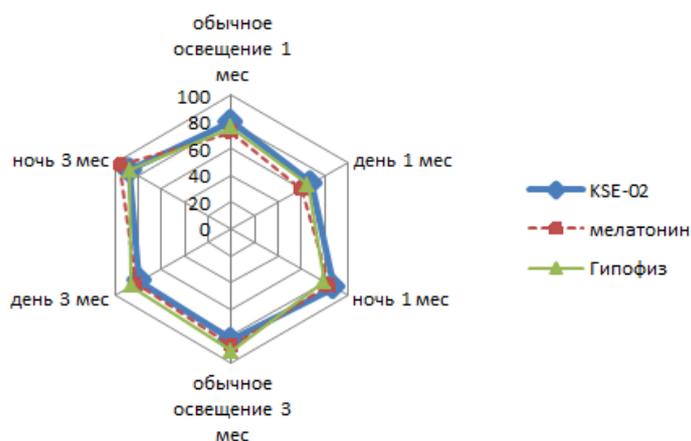


Рисунок 12 – Влияние фармакологической коррекции на концентрацию HIF1 α в плазме крови крыс через 1 и 3 месяца светового десинхрониза.

Активность фермента ФЕПМК в контрольной группе достоверно повысилась в 2,4 раза по сравнению с интактной группой через 1 месяц постоянного освещения. Применение фармакологических субстанций достоверно понизило активность данного фермента. Применение KSE-02 понизило на 73,0 %, мелатонина – на 72,3 %, пептидного экстракта гипофиза - на 74,2 % по сравнению с контрольной группой. Через 3 месяца постоянного освещения тенденция сохранилась. Применение KSE-02 достоверно понизило активность данного фермента на 76,3 %, мелатонина – на 73,9 %, пептидного экстракта гипофиза - на 78,0 % по сравнению с контрольной группой.

Через 1 месяц постоянной темноты применение фармакологических субстанций достоверно также 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 %. Через 3 месяца постоянной темноты также выявлено достоверное снижение активности ФЕПМК при применении KSE-02 - на 38,8 %, мелатонина – на 28,1 %, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя - на 26,2 % по сравнению с контрольной группой (рис.13).

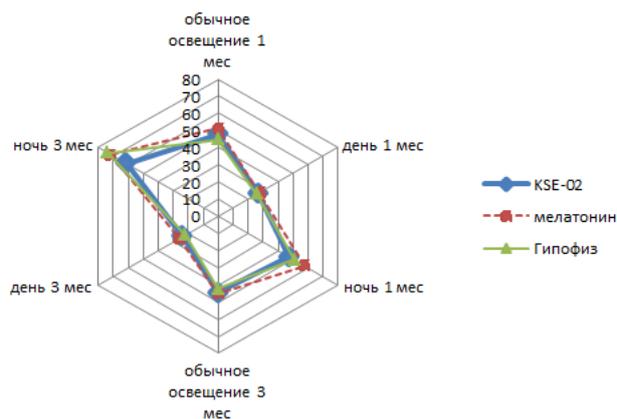


Рисунок 13 – Влияние

фармакологической коррекции на активность ФЕПКК в плазме крови крыс через 1 и 3 месяца светового десинхроноза.

Полученные результаты выявили, что активность ферментов КК и ЛДГ в тканях головного мозга зависит от изменения светового режима. Изменение активности фермента ФЕПКК 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. Поэтому использование субстанций для фармакологической коррекции оказали стабилизирующий эффект на показатели энергетического обмена. Фармакологическая коррекция оказала также эффект на транскрипционный фактор PPAR γ , что свидетельствует об изменении экспрессии часовых генов, связанных с клеточным метаболизмом, обменом энергии, в частности.

Полученные результаты были проанализированы двухфакторным дисперсионным анализом. Согласно факторам детерминации через 1 месяц светового десинхроноза влияние соединений фармакологической коррекции в дозе 100 мкг/кг интраназально в течение первых 14 дней на фоне окислительного давления на показатели энергетического обмена в тканях головного мозга крыс значительное. Так, при постоянном освещении наиболее весомое воздействие экспериментальных субстанций проявилось на изменении активности фермента ФЕПКК по сравнению с остальными участниками этой системы. Так, факторы детерминации при использовании KSE-02 составили $\text{ФД}=0,729$, мелатонина – $\text{ФД}=0,713$, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – $\text{ФД}=0,738$. Также средства фармакологической коррекции оказали эффект на показатель HIF1 α . При применении KSE-02 фактор детерминации HIF1 α составил 0,553, мелатонина – фактор детерминации HIF1 α равен 0,702, пептидного экстракт из гипофиза Северного оленя HIF1 α ($\text{ФД}=0,647$). Эффект взаимодействия проявился под влиянием всех 3 субстанций на показателе активности Na^+, K^+ -АТФазы. При постоянной темноте воздействие экспериментальных субстанций также значительно проявилось на изменение активности ФЕПКК. Так, факторы детерминации при использовании KSE-02 составили $\text{ФД}=0,647$, мелатонина – $\text{ФД}=0,591$, пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя $\text{ФД}=0,653$. Эффект взаимодействия фармакологического агента и светового фактора проявился при использовании всех трех субстанций на показателях HIF1 α и Na^+, K^+ -АТФазы.

Согласно факторам детерминации фактор освещения при использовании всех 3 веществ значительно влияет на показатели КК и ЛДГ в тканях головного мозга крыс. Это свидетельствует о влиянии светового режима на креатинкиназную систему поставки АДФ в дыхательную цепь для синтеза АТФ и на роль ЛДГ как регулятора поставок пирувата в реакции аэробного или анаэробного обмена.

Через 3 месяца светового десинхроноза оценка вклада параметров энергетического обмена в функциональное состояние организма двухфакторным дисперсионным анализом показала, что фармкоррекция KSE-02 при постоянном освещении оказала максимальный эффект на показатели HIF1 α ($\text{ФД}=0,508$), ФЕПКК ($\text{ФД}=0,444$) и PPAR γ ($\text{ФД}=0,221$). Эффект взаимодействия выявлен в активности ферментов ЛДГ ($\text{ФД}=0,164$) и Na^+, K^+ -АТФазы ($\text{ФД}=0,582$). При постоянной темноте исследуемая фармакологическая субстанция воздействовала на активность фермента ФЕПКК ($\text{ФД}=0,473$) и концентрацию HIF1 α ($\text{ФД}=0,437$). Эффект взаимодействия выявлен в активности ферментов КК ($\text{ФД}=0,166$), ЛДГ ($\text{ФД}=0,232$), Na^+, K^+ -АТФазы ($\text{ФД}=0,575$).

При использовании в качестве фармакологической коррекции мелатонина значимый эффект при постоянном освещении был выявлен при оценке показателей активности ФЕППК (ФД=0,432), PPAR γ (ФД=0,187) и концентрации NIF1 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 NIF1 α (ФД=0,215), ФЕППК (ФД=0,426) внесли свесомый вклад в энергетический обмен клетки. Эффект взаимодействия влияния фармкоррекции и постоянной темноты проявился на показателях ФЕППК (ФД=0,104) и Na⁺,K⁺-АТФаза (ФД=0,435).

При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя фармакологический эффект при постоянном освещении проявился в показателях NIF1 α (ФД=0,214), ФЕППК (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 из гипофиза Северного оленя оказал воздействие на NIF1 α (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).

Таким образом, через 3 месяца светового десинхроноза оценка вклада изучаемых показателей энергетического обмена при фармакологической коррекции функционального состояния организма, выявило воздействие исследуемых субстанций в дозе 100 мкг/кг при интраназальном введении в значительной степени на показатели NIF1 α , ФЕППК и PPAR γ при постоянном освещении и при постоянной темноте. Исследуемые субстанции также оказывают метаболическое действие, действуя через транскрипционные факторы, изменяют активность экспрессии часовых генов. Это свидетельствует, что данные субстанции обладают множественным эффектом на клеточный метаболизм при изменении светового режима.

Концентрация нейротрофических факторов в плазме крови крыс в условиях хронического светового десинхроноза при фармакологической коррекции

При исследовании концентрации нейроспецифических пептидных маркеров в плазме крови экспериментальных животных обнаружено положительное влияние исследуемых субстанций на баланс процессов нейродеструкции и нейропротекции. В группе с постоянным освещением 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. Применение фармакологической коррекции KSE-02 достоверно снизило концентрацию MBP в плазме крови на 31,1 %, использование мелатонина - на 28,8 %, применение пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя – на 32,5 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация белка PEDF – фактора дифференцировки из пигментного эпителия в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 в плазме крови достоверно снизилась на 10,1 %, пептидным экстрактом из гипофиза Северного оленя – на 16,7 %, по сравнению с контрольной группой. Концентрация белка S-100 как маркера повреждения головного мозга в плазме крови животных, получавших KSE-02 достоверно снизилась на 29,7 %, а использование пептидного экстракта гипофиза достоверно снизило концентрацию данного белка на 21,9 % по сравнению с контрольной группой. При постоянной темноте через 1 месяц применение KSE-02 достоверно снизило концентрацию GFAP на 18,0 %, а при использовании пептидного экстракта гипофиза – на 23,2 % по сравнению с контрольной группой.

Концентрация MBP в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно снизилась на 31,9 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 26,6 % по сравнению с контрольной группой. Концентрация белка PEDF в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 достоверно снизилась на 18,4 %, пептидным экстрактом гипофиза – на 11,4 %, по сравнению с контрольной группой. KSE-02 также достоверно увеличило концентрацию NSE в плазме крови

на 14,2 % по сравнению с контрольной группой. Кальций-связывающий белок S-100 в плазме крови достоверно снизился при введении пептидного экстракта гипофиза на 24,2 % по сравнению с контрольной группой. Таким образом, экспериментальные субстанции пептидный экстракт гипофиза Северного оленя и KSE-02 в дозе 100 мкг/кг в условиях изменения светового режима проявили фармакологический эффект. Интересно, что в проведенном эксперименте были исследованы два нейропротекторных белка: BDNF и PEDF. Использование 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 KSE-02 и пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг при измененном световом режиме снизило концентрацию PEDF в плазме крови. 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.

Двухфакторный дисперсионный анализ выявил 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).

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). 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.

Через 3 месяца постоянного освещения при оказанном окислительном давлении использование фармакологической коррекции понизило концентрацию MBP в плазме крови. 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 достоверно снизилась на 9,5 % в группе с фармакологической коррекцией KSE-02 по сравнению с контрольной группой. 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. Концентрация BDNF достоверных изменений в плазме крови через три месяца постоянного освещения не показала. Концентрация GFAP в группе с постоянной темнотой через 3 месяца после отравления тиопенталом натрия в полублужетальной дозе при использовании KSE-02 достоверно снизилась на 23,0 %, пептидного экстракта гипофиза – на 32,2 %. 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 достоверно снизилась на 17,9 % при фармакологической коррекции KSE-02, при использовании мелатонина – на 15,2 % при сравнении с контрольной группой. 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.

Концентрация BDNF достоверных изменений не проявила при использовании фармакологической коррекции.

Использование двухфакторного дисперсионного анализа показало, что эффект фармакологической коррекции KSE-02 через 3 месяца постоянного освещения 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.

Эффект фармакологической коррекции KSE-02 через 3 месяца постоянной темноты 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. При использовании в качестве фармакологической коррекции пептидного экстракта гипофиза Северного оленя эффект фармакологической коррекции через 3 месяца постоянного освещения проявился на показателях GFAP (ФД=0,209), MBP (ФД=0,280), NSE (ФД=0,210), мелатонин (ФД=0,140). Эффекта взаимодействия не выявлено.

Таким образом, использование фармакологической коррекции KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 3 месяца измененного светового режима способствует изменению концентрации нейротрофических факторов MBP, NSE. При этом взаимодействие выявлено по фактору PEDF, обладающему антиангиогенными, противоопухолевыми и нейротрофическими функциями. При коррекции мелатонином и пептидным экстрактом гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 3 месяца измененного светового режима влияние оказывается на одинаковый спектр нейротрофических 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. Внешними индикаторами снижения внутреннего дисхронизма между эндогенными клеточными осцилляторами являются изменения поведения и когнитивных навыков животных при изменении светового режима.

Поведенческие и когнитивные показатели крыс в условиях хронического светового десинхроноза при фармакологической коррекции

Данный раздел работы был проведен совместно с лабораторией психофармакологии (ФГБУ НКЦТ им. ак. С.Н. Голикова ФМБА России) научными сотрудниками Михайловой М.С., Бельской А.В., Лисицким Д.С. 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. Некоторые компоненты активного поведения крыс перешли в груминг с целью формирования стрессоустойчивости к воздействию постоянной темноты. Наилучший эффект на ориентировочно-двигательную активность животных оказали экспериментальные субстанции KSE-02 и пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг в разных режимах освещения. Мелатонин оказал существенный эффект только на двигательную активность животных в центре площадки при постоянном освещении и при постоянной темноте.

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 (ФД=0,273). Эффекта взаимодействия не обнаружено. При постоянной темноте обнаружен эффект взаимодействия на показателе груминга (ФД=0,108). Влияние пептидного экстракта гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг через 1 месяц постоянного освещения 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). При постоянной темноте эффект взаимодействия не обнаружен. Через 3 месяца светового десинхроноза применение пептидного экстракта гипофиза Северного оленя выявило весомый вклад данной субстанции при постоянном освещении примерно в равной степени на большую часть показателей теста ОП. Сочетанное действие фактора освещения и фармакологической коррекции проявилось на показателе «груминга» (ФД=0,182). При постоянной темноте 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.

Таким образом, фармакологический эффект KSE-02 в дозе 100 мкг/кг через 3 месяца 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. Пептидный экстракт гипофиза Северного оленя в дозе 100 мкг/кг продемонстрировал существенный фармакологический эффект при постоянном освещении. При постоянной темноте влияние было выявлено влияние пептидов на показателе общей двигательной активности животных. Эффект взаимодействия фармакологической коррекции с режимом освещения было 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.

Результатом фармакологической коррекции при изучении когнитивных функций лабораторных животных стало увеличение количества обученных животных через 24 часа после обучения, что свидетельствует об улучшении процессов консолидации памяти и воспроизведения информации. 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. Наилучший эффект оказал пептидный экстракт гипофиза Северного оленя. Также был обнаружен эффект взаимодействия данной субстанции как с режимом постоянного освещения, так и с режимом постоянной темноты (1 мес) по показателю ЛПО. Через 3 месяца хронического светового десинхроноза пептидный экстракт из гипофиза Северного оленя оказал воздействие на процессы воспроизведения информации.

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 отсутствии 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, Г-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 влияет на пострансляционную гистоновую модификацию с целью изменения экспрессии генетической информации.

Использованные в исследовании вещества для фармакологического воздействия оказали эффект по выбранным «мишеням». 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 вызывает 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 α 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 α . Данный факт подтверждает плейотропное 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 хроническом 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 оценки уровня дисхронизма на клеточном уровне может быть использована 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 % ($p \leq 0,05$), 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 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 изменения светового режима. 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 $\text{HIF}1\alpha$ 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 $\text{HIF}1\alpha$ 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 нейротрофического фактора BDNF и повышается содержание фактора PEDF, обладающего апоптотическим и антиангиогенным действием, что определяет необходимость назначения препаратов с нейротрофическим 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, антигипоксический 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 HIF1 α 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, антигипоксантажной, 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 HIF1 α 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 «усиления окислительного давления» в условиях длительного 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 длительным световым десинхронозом.

3. Для поддержания функционального состояния организма при выполнении задач, требующих высокой концентрации внимания, фиксации определенной информации в условиях длительного 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 РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ В
РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ ИЗДАНИЯХ**

1. **Батоцыренова Е.Г.** Исследования маркеров структурно-функциональных нарушений центральной нервной системы крыс на экспериментальной модели тиопенталовой комы / Швецов А.В., Батоцыренова Е.Г., Степанов С.В., Иванов М.Б. // *Нейрохимия*. – 2016. – № 4. – С. 332-336.
2. **Батоцыренова Е.Г.** Маркеры энергетического обмена в условиях нарушения циркадианных ритмов / Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Иванов М.Б. // *Вопросы биол. мед и фарм. химии*. – М. - 2017. Т.20. - №11 – С.39-42.
3. **Батоцыренова Е.Г.** Концентрация нейротрофических факторов в отдаленном периоде после отравления нейротоксикантами в условиях десинхроноза / Кострова Т.А., Щепеткова К.М., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А. // *Курортная медицина*. – 2018. – № 3. – С. 51-53.
4. **Батоцыренова Е.Г.** Исследование сочетанного действия тиопентала натрия и нарушения циркадианных ритмов на поведенческие реакции лабораторных животных / Кострова Т.А., Лисицкий Д.С., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Золотоверхая Е. А., Щепеткова К.М. // *Medline.ru Российский биомедицинский журнал*. –2018. –Т. 19. – С. 167-181.
5. **Батоцыренова Е.Г.** Оценка биохимических показателей в тканях головного мозга у крыс в отдаленный период после тяжелого отравления тиопенталом натрия / Кострова Т.С., Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Степанов С.В., Золотоверхая Е.А., Щепеткова К.М. // *Медицина экстремальных ситуаций*. 2019. – Т.21 № 3 – С. 429-435.
6. **Batotsyrenova E.G.** The effects of desynchronization on the gut microbiota composition and physiological parameters of rats / Batotsyrenova E.G., K.M. Klimina, R.A. Yunes, E.H. Gilyaeva, E.U. Poluektova, T.A. Kostrova // *BMC Microbiology* –2019. –Vol.19(1). – С. 160. DOI: 10.1186/s12866-019-1535-2. (DOI: 10.1186/s12866-019-1535-2)
7. **Батоцыренова Е.Г.** Изменение ритмов биохимических показателей при моделировании острого десинхроноза / Батоцыренова Е.Г., Бакулев С.Е., Невзорова Т.Г., Иванов М.Б., Кашуро В.А., Золотоверхая Е.А. // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2020. – Т. 170, № 8. – С. 155-159. (ISSN 2413-1008 – электронная версия)
8. **Batotsyrenova E.G.**, The role of light desynchronization in the development of stress-induced aging / Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Ivanov M.B. // *BIO Web Conference*. – 2020. – Vol. 22. – Article № 01006. – 10p. (DOI: 10.1051/bioconf/20202201006)
9. **Батоцыренова Е.Г.** Изменение биохимических показателей при хроническом световом десинхронозе / Батоцыренова Е.Г., Золотоверхая Е.А., Кашуро В.А., Шарабанов А.В. // *Биомедицинская химия*. – 2020.- Т. 66, вып. 6. – С.450-455. (DOI: 10.18097/PBMC20206606450)
10. **Батоцыренова Е.Г.** Фармакологическая коррекция отдаленных последствий острого тяжелого отравления тиопенталом натрия в условиях хронического светового десинхроноза / Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В.// *Биомедицина*. – 2021. – Т. 17, № 3. – С.23-28. (DOI: 10.33647/2074-5982-17-3-23-28)
11. **Батоцыренова Е.Г.** Эффективность пептидного продукта из гипофиза Северного оленя в качестве антиоксидантного средства при сочетанном воздействии светового десинхроноза и депримирующего агента / Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В., Козлов В.К., Коваленко А.Л. // *Антибиотики и химиотерапия*. –2021. – Т. 66. №. 78. – С. 20-29. (DOI: 10.37489/0235-2990-2021-66-7-8-20-29)
12. **Batotsyrenova E.G.**, Profile of the plasma catecholamines of sexually mature rats exposed to a combination of factors of different natures / Batotsyrenova E.G. // *Advances in Gerontology*. – 2021. – Т.11 № 2. – С. 132-138. (DOI: 10.1134/S207905702102003X)
13. **Batotsyrenova E.G.** The effects of *Levilactobacillus brevis* on the physiological parameters and gut microbiota composition of rats subjected to desynchronization / Batotsyrenova E.G., Olekhovich

E.I., Yunes R A., Kashuro V A., Poluektova E.U., Veselovsky V A.// Microbiol Cell Factories. – 2021. – Т. 20. № 1. – № 226.

14. **Батоцыренова Е.Г.** Антиоксидантный эффект экстрактов пептидной природы с модифицированным высвобождением при световом десинхронозе / Батоцыренова Е.Г., Шарабанов А.В., Кашуро В.А., Гасанов М.Т., Комов Ю.В. // Биомедицина. –2022. – Т. 18, № 3. – С.50-57.

15. **Батоцыренова Е.Г.** Влияние пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя на когнитивные функции крыс при изменении светового режима / Батоцыренова Е.Г., Мельникова М.В., Бельская А.В., Иванов Д.О., Кашуро В.А., Красникова Е.Н., Шарабанов А.В. // Педиатр – 2023 – Т.14, № 3 – С.87-96.

ПАТЕНТЫ

1. **Батоцыренова Е.Г.**, Гавриленкова Л.П., Гадон В.Л. и др. Средство для коррекции десинхроноза, вызванного нарушением светового режима. Патент на изобретение RU 2660578 С1, 06.07.2018.

2. **Батоцыренова Е.Г.**, Иванов М.Б., Кашуро В.А., Краснов К.А. Средство коррекции и профилактики состояний, вызванных нарушением суточных ритмов. Патент на изобретение RU 2655813 С1, 29.05.2018.

СБОРНИКИ ТЕЗИСОВ И НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИХ ИЗДАНИЙ

1. **Батоцыренова, Е.Г.** Влияние десинхроноза на изменение активности фосфоенолпируваткарбоксикиназы / В. А. Кашуро, Е. Г. Батоцыренова, Т. В. Кашина [и др.] // Актуальные проблемы диагностики, профилактики и лечения профессионально обусловленных заболеваний : Материалы III Всероссийской научно-практической конференции, Сочи, 15–16 октября 2015 года. – Сочи: Типография ИП Кривлякин С.П., 2015. – С. 154-156.

2. **Батоцыренова, Е.Г.** Изменение показателей антиоксидантной системы при остром тяжелом отравлении тиопенталом натрия в отдаленный период в условиях десинхроноза / Е. Г. Батоцыренова, Т. А. Кострова, Е. Х. Жилиева, В. А. Кашуро // Окислительный стресс в психиатрии и неврологии : Всероссийская конференция с международным участием, Санкт-Петербург, 20–21 октября 2016 года. – Санкт-Петербург: Межрегиональная общественная организация "Человек и его здоровье", 2016. – С. 19-20.

3. **Батоцыренова, Е.Г.** Изменение показателей энергетического обмена в условиях десинхроноза / Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро, М. Б. Иванов [и др.] // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2016. – № S1. – С. 182.

4. **Батоцыренова, Е.Г.** Изменения антиоксидантной системы при интоксикации тиопенталом натрия в условиях изменения циркадианного ритма / Е. Г. Батоцыренова, Т. А. Кострова, Е. Х. Жилиева // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2016. – № S1. – С. 189.

5. **Батоцыренова, Е.Г.** Исследование влияния отдаленных последствий острого тяжелого отравления тиопенталом натрия на поведенческие реакции лабораторных крыс в условиях десинхроноза / Т. А. Кострова, Е.Г. Батоцыренова, Д. С. Лисицкий [и др.] // Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии : Тезисы докладов, Санкт-Петербург, 20–23 июня 2017 года. – Санкт-Петербург: Институт экспериментальной медицины, 2017. – С. 135.

6. **Батоцыренова, Е.Г.** Экспериментальная фармакологическая коррекция концентрации катехоламинов в моче крыс при джетлаге / Е. Х. Жилиева, Т. А. Кострова, Е. Г. Батоцыренова, С. В. Степанов // Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и патологии : Тезисы докладов, Санкт-Петербург, 20–23 июня 2017 года. – Санкт-Петербург: Институт экспериментальной медицины, 2017. – С. 119.

7. **Батоцыренова, Е.Г.** Фармакологическая модуляция уровня катехоламинов при десинхронозе / Е. Х. Жилиева, Е. Г. Батоцыренова, Т. А. Кострова, В. А. Кашуро // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018. – Т. 81, № S. – С. 83.

8. **Batotsyrenova, E. G.** Analysis of gut microbiota diversity and physiological parameters in different light/dark cycles / K. Klimina, E. G. Batotsyrenova, M. Odorskaya [et al.] // Translating microbiome science ИМС 2018 : Book of Abstracts, Killarney, Ireland, 26–28 июня 2018 года. – Killarney, Ireland: Interfacing Food and Medicine, 2018. – P. 193.

9. **Батоцыренова, Е.Г.** Влияние изменения светового режима на уровень катехоламинов в биологических жидкостях / Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро, С. В. Степанов // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2019. – Т. 11, № S2. – С. 196.

10. Кашуро, В. А. Реакция антиоксидантной системы на изменение светового режима / В. А. Кашуро, **Е. Г. Батоцыренова**, М. Б. Иванов // Acta Naturae (русскаяязычная версия). – 2019. – Т. 11, № S2. – С. 196.

11. **Батоцыренова, Е.Г.** Нейропротекторная активность пептидного экстракта из гипофиза Северного оленя при сочетанном воздействии нейротоксиканта и светового десинхроноза / Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро // III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов : Материалы: VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ. X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ». VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ, Сочи, Дагомыс, 03–08 октября 2021 года. Том 2. – Москва: Издательство "Перо", 2021. – С. 135.

12. Кашуро, В. А. Влияние дельта-сон индуцирующего пептида на кислотно-основное состояние при физической нагрузке в условиях светового десинхроноза / В. А. Кашуро, **Е. Г. Батоцыренова**, Т. Г. Невзорова // III объединенный научный форум физиологов, биохимиков и молекулярных биологов : Материалы: VII СЪЕЗД БИОХИМИКОВ РОССИИ. X РОССИЙСКИЙ СИМПОЗИУМ «БЕЛКИ И ПЕПТИДЫ». VII СЪЕЗД ФИЗИОЛОГОВ СНГ, Сочи, Дагомыс, 03–08 октября 2021 года. Том 2. – Москва: Издательство "Перо", 2021. – С. 135-136.

13. **Батоцыренова, Е.Г.** Влияние светового режима на физическую работоспособность и параметры кислотно-основного равновесия / Е. Г. Батоцыренова, В. А. Кашуро // Актуальные вопросы в педагогических, медико-биологических и психологических аспектах физической культуры и спорта : Межвузовский сборник статей научно-практической конференции, Санкт-Петербург, 28 апреля 2021 года / Под редакцией А.А. Марьина. – Санкт-Петербург: Военно-медицинская академия имени С.М.Кирова, 2021. – С. 23-27.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

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 тёмной камере через 2 часа
 ТК24 – Время нахождения в тёмной камере через 24 часа
 УРПИ – условная реакция пассивного избегания
 ФД – фактор детерминации
 ФЕПКК – фосфоенолпируваткарбоксикиназа
 ЦНС – центральная нервная система
 BDNF – нейротрофический фактор головного мозга (Brain Derived Neurotrophic Factor)
 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)
 PPARγ – Гамма - рецептор, активируемый пролифератором пероксисом, представляет собой ядерный рецептор II типа, функционирующий как фактор транскрипции
 S100 – кальций связывающий белок