

Эффективность пептидного продукта из гипофиза северного оленя в качестве антиоксидантного средства при сочетанном воздействии светового десинхроноза и депримирующего токсиканта

Е. Г. БАТОЦЫРЕНОВА^{1,2}, В. А. КАШУРО^{1,3}, А. В. ШАРАБАНОВ¹,
*В. К. КОЗЛОВ^{1,3}, А. Л. КОВАЛЕНКО¹

¹ ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

² ФГБУ ВО «Санкт-Петербургский государственный Педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

³ «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

The Efficacy of a Peptide Product from the Pituitary Gland of *Rangifer tarandus* as an Antioxidant Agent Under the Combined Effects of Light Desynchronization and Depriming Toxicant

EKATERINA G. BATOTSYRENOVA^{1,2}, VADIM A. KASHURO^{1,3}, ANDREY V. SHARABANOV¹,
*VIKTOR K. KOZLOV^{1,3}, ALEXEY L. KOVALENKO¹

¹ Scientific and Clinical Center of Toxicology named after academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

² St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

³ St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russian Federation

Резюме

В экспериментальном исследовании при сочетанном воздействии на крыс факторов различной природы: физического фактора — длительный световой десинхроноз (разные световые режимы) и химического фактора — острое тяжёлое отравление депримирующим ядом (тиопентал натрия, ЛД₅₀) изучали возможность использования методов определения оксидативного статуса организма (ферментное и неферментное звенья клеточной антиоксидантной системы) для оценки антиоксидантных свойств пептидов из гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*). У животных опытных подгрупп фармакологическую коррекцию оксидативного статуса клеток проводили пептидным продуктом гипофиза, вводя выжившим крысам этот биопродукт интраназально в дозе 100 мкг/кг, однократно в первую половину объективного дня на протяжении 14 дней после отравления тиопенталом натрия. Выжившим животным контрольных подгрупп аналогичным образом вводили физиологический раствор. Эффективность коррекции пептидным продуктом гипофиза нарушений клеточного оксидативного статуса тестировали через 1 мес. от начала сочетанного воздействия на крыс стресс-факторов. Установили, что использование данного биоактивного пептидного продукта у экспериментальных животных, подверженных воздействию разных световых режимов и химического фактора, способствовало снижению в эритроцитах крыс изначально повышенных показателей перекисного окисления липидов и повышению изначально сниженных показателей ферментативного звена антиоксидантной защиты. После фармакологической коррекции увеличивалась активность супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы, глутатионтрансферазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы. В эритроцитах увеличивалась также концентрация восстановленного глутатиона. Максимальные изменения были отмечены в опытной подгруппе крыс, подвергнутых сочетанному воздействию постоянного освещения и депримирующего яда. Было также установлено, что выявленные позитивные изменения показателей ферментативного звена антиоксидантной защиты у животных опытных подгрупп ассоциированы с поддержанием в красных клетках крови достаточной концентрации восстановленного глутатиона, что при нарушении условий внешнего режима освещения способствовало сохранению клеточного редокс-баланса.

Ключевые слова: крысы; сочетанное действие; световой десинхроноз (постоянное освещение/отсутствие освещения); острое тяжёлое отравление депримирующим ядом (тиопентал натрия, ЛД₅₀); эритроциты; ферменты антиоксидантной защиты; система глутатиона; редокс-баланс; биоактивные пептиды гипофиза; антиоксидантные эффекты

© Коллектив авторов, 2021

*Адрес для корреспонденции: ул. Бехтерева д. 1, НКЦ токсикологии им. акад. С. Н. Голикова, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация. E-mail: kvk52@mail.ru

© Team of Authors, 2021

*Correspondence to: 1 Bekhtereva st., Scientific and Clinical Center of Toxicology named after academician S. N. Golikov, St. Petersburg, Russian Federation. E-mail: kvk52@mail.ru

Для цитирования: Батоцыренова Е.Г., Кашуро В.А., Шарабанов А.В., Козлов В.К., Коваленко А.Л. Эффективность пептидного продукта из гипофиза северного оленя в качестве антиоксидантного средства при сочетанном воздействии светового десинхроноза и депримирующего токсиканта. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 7–8: 20–29. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-7-8-20-29.

Abstract

The possibility of using methods for determining the oxidative status of an organism (enzymatic and non-enzymatic links of the cellular antioxidant system) to assess the antioxidant properties of peptides of the pituitary gland of the reindeer (*Rangifer tarandus*) were investigated in an experimental study conducted with a combined effect of factors of different nature on rats: a physical factor — prolonged light desynchronization (different light modes) and a chemical factor - acute severe poisoning with depriving toxicant (sodium thiopental, LD₅₀). The pharmacological correction of the oxidative status of cells in the animals of the experimental subgroups was carried out with the peptide product of the pituitary gland, intranasally injecting the surviving rats with the bioproduct at a dose of 100 µg/kg, once in the first half of the objective day for 14 days after poisoning with sodium thiopental. The surviving animals of the control groups were similarly injected with saline. The effectiveness of the correction of the disruptions of the cellular oxidative status with the peptide product of the pituitary gland was tested 30 days after the onset of the combined effect of stress factors on rats. It was found that the use of this bioactive peptide product in experimental animals exposed to different light modes and a chemical factor contributed to a decrease in the initially increased indicators of lipid peroxidation in rat erythrocytes and an increase in the initially reduced indicators of the enzymatic link of antioxidant protection. The activity of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, glutathione transferase, as well as glucose-6-phosphate dehydrogenase increased after pharmacological correction. The concentration of reduced glutathione also increased in erythrocytes. The maximum changes were observed in the experimental subgroup of rats exposed to the combined effects of constant illumination and depriving toxicant. It was also found that the revealed positive changes in the indicators of the enzymatic link of antioxidant protection in animals of the experimental subgroups are associated with the maintenance of a sufficient concentration of reduced glutathione in red blood cells, which contributed to the maintenance of the cellular redox balance, when the conditions of the external lighting regime are violated.

Keywords: rats, combined action, light desynchronization (constant light/constant dark), acute severe poisoning with depriving toxicant (sodium thiopental, LD₅₀), erythrocytes, antioxidant defense enzymes, glutathione system, redox balance, bioactive pituitary peptides, antioxidant effects.

For citation: Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Sharabanov A.V., Kozlov V.K., Kovalenko A.L. The efficacy of a peptide product from the pituitary gland of *Rangifer tarandus* as an antioxidant agent under the combined effects of light desynchronization and depriving toxicant. *Antibiotiki i Khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy*. 2021; 66: 7–8: 20–29. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-7-8-20-29.

Введение

Тенденции развития мирового фармацевтического рынка способствуют разработке и внедрению новых инновационных лекарственных препаратов, как более эффективных, безопасных и избирательно действующих на патологические процессы в организме. Одним из направлений поиска перспективных лекарственных препаратов является исследование фармакологических эффектов средств, стимулирующих защитные механизмы организма при воздействии неблагоприятных факторов внешней среды. Этими свойствами, в частности, обладают иммуноактивные лекарственные препараты (цитокины и их индукторы (включая индукторы интерферонотеза, например циклоферон), тимомиметики и другие), естественные антиоксиданты, антиоксидантные лекарственные средства на основе тиоктовой (α -липоевой) и янтарной кислот [1].

Одним из новых классов фармакологических средств, направленных на повышение общей устойчивости организма к воздействию неблагоприятных факторов (инфекционные этиопатогены, экотоксиканты; физические, психоэмоциональные и умственные нагрузки), являются низкомолекулярные пептидные биорегуляторы.

Известно, что биоактивные пептиды в малых дозах способствуют сохранению гомеостаза организма и позитивно влияют на различные биологические процессы, как правило, без наличия побочных эффектов их использования. Биоактивные пептиды, выполняя функцию селективных сигнальных молекул, связываются с клеткой через специфические рецепторы (G-белки) и/или ионные каналы и инициируют различные внутриклеточные эффекты. Учитывая привлекательный фармакологический профиль биоактивных пептидов, их свойства как биорегуляторов, а также незначительную сложность технологических процессов получения пептидных продуктов из тканей животных в сравнении с традиционными фармацевтическими препаратами, биоактивные пептиды перспективны в качестве новых терапевтических средств. С возрастом способность сигнальных путей активировать гены в условиях стресса снижается, нарастают также нарушения антиоксидантной защиты клеток. Поэтому возможность влиять на процессы внутриклеточного сигналинга путём фармакологического воздействия биологически активными веществами, в частности пептидами, с одновременным усилением антиоксидантной защиты клеток даёт возможность повысить резистент-

ность организма к негативному воздействию различных стресс-факторов, что способствует нормализации физиологических функций и увеличению продолжительности жизни [2, 3].

В предыдущих исследованиях нами показано, что длительный световой десинхроноз продолжительностью от одного до трёх месяцев (постоянное освещение или постоянное отсутствие освещения) приводит к изменениям в эндогенном компоненте биологических ритмов, в частности, в циркадианных ритмах. При этом наблюдается ответная реакция со стороны компонентов клеточных антиоксидантных систем. Одновременное с десинхронозом однократное острое отравление депримирующим ядом — тиопенталом натрия в полудетальной дозе имеет следствием более существенные изменения клеточного оксидативного статуса [4–8]. Так, при тяжёлых отравлениях тиопенталом натрия установлено, что ведущими патогенетическими звеньями поражения ЦНС, которые приводят к отдалённым последствиям перенесённой острой интоксикации, являются: нарушения микроциркуляции, развитие тканевой гипоксии, прямое или опосредованное повреждение клеточных биологических мембран [9]. Очевидно, что одновременное воздействие факторов десинхроноза и острой тяжёлой интоксикации депримирующим ядом — тиопенталом натрия в дозе ЛД₅₀ — может рассматриваться как модель нарушений клеточного оксидативного статуса, с использованием которой в экспериментах на лабораторных животных возможно исследовать эффективность различных биоактивных веществ в качестве антиоксидантов и адаптогенов.

Выбор биоактивного продукта из гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*) в качестве потенциально эффективного средства коррекции неблагоприятных эффектов оксидативного стресса, индуцированного сочетанным воздействием на организм факторов различной природы: физического фактора — продолжительного светового десинхроноза и химического фактора — острой тяжёлой интоксикации тиопенталом натрия, объясняется тем, что пептидные продукты гипофиза способны увеличивать резистентность организма к неблагоприятным внешним воздействиям, а как биологический вид *Rangifer tarandus* адаптирован к жизни в условиях низких температур и ограниченных пищевых ресурсов, интенсивных и длительных физических нагрузок, воздействиям геомагнитных всплесков, а также циркадианным перестройкам в условиях смены полярного дня и полярной ночи. В короткое арктическое лето в организме животных этого вида интенсивно синтезируются различные биоактивные соединения, необходимые для поддержания жизнедеятельности в зимний период.

Материал и методы

В целях моделирования десинхроноза с изменённым световым режимом проводили опыты на белых беспородных крысах-самцах (возраст — 2 мес., масса — 160–200 г) [10]. Одновременно включённым в контрольную и опытную группы крысам вводили депримирующий яд — тиопентал натрия в дозе ЛД₅₀ (85 мг/кг массы животного, в/б). На следующий день после введения тиопентала натрия выжившие животные из контрольной и опытной групп помещались в условия с разным режимом освещения, а именно: режим обычного освещения (12:12, 500 лк), режим постоянного освещения и режим постоянного отсутствия освещения — постоянной полной темноты (с продолжительностью каждого режима 1 месяц). Таким образом, для каждого режима освещения было сформировано 3 подгруппы животных: интактная, контрольная и подгруппа с фармакологической коррекцией (опытная подгруппа). В каждую подгруппу было включено по 6 животных. Всего при проведении экспериментов было использовано 54 крысы. Через 1 мес. от начала экспериментов крысы подвергались эвтаназии для забора биологического материала.

Фармакологическую коррекцию у животных опытных подгрупп проводили клеточным экстрактом гипофиза Северного оленя. Гипофиз забирали в ноябре–декабре при умерщвлении животных, служивших источником биологического материала. Отбор проб тканей гипофиза, получение экстрактов и подготовку образцов к определению состава и характеристик осуществляли в соответствии с ГОСТ 15113.0-77, определение органолептических показателей производили по ГОСТ 15113.3-77, массовой доли влаги — по ГОСТ 15113.4-77, массовой доли белка — по ГОСТ 25011-81, массовой доли золы — по ГОСТ 15113.8-77 (все ГОСТы разработаны и действуют для пищевых концентратов). 1% раствор пептидного продукта гипофиза имел рН 7,2±1,0. Пептидный продукт гипофиза после осуществления всех технологических процедур получения клеточного экстракта и последующей очистки представлял собой стерильный лиофилизированный мелкодисперсный порошок от светло-серого до белого цвета и был стандартизирован по следующим физико-химическим показателям: массовая доля влаги не более 10%, массовая доля водорастворимого белка — 2,6±0,1, массовая доля золы не более 1%, молекулярно-массовое распределение пептидов в экстракте гипофиза по долям — 11% (пептиды м.м. 100–1000 Да), 28% (пептиды м.м. 1000–2000 Да), 61% (пептиды м.м. 3000–5000 Да). Профиль пептидов в продукте гипофиза идентифицировали методом гельэлектрофореза и ГХ-МС анализа на хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity, оснащённом времяпролетным масс-спектрометрическим детектором Agilent 6540 LC/Q-TOF. Было установлено, что в пептидном продукте гипофиза имелся набор водорастворимых олиго- и полипептидных фракций вплоть до мономерных субъединиц. Фармакологическая коррекция пептидным продуктом гипофиза проводилась в течение 14 дней после отравления тиопенталом натрия, биопрепарат использовали в первую половину эффективного дня, вводя пептидный экстракт в дозе 100 мкг/кг массы тела, интраназально, один раз в сутки.

Отбор биологического материала (цельная кровь) у крыс производили через 1 мес. после начала воздействия стресс-факторов. Для проведения биохимических исследований использовали эритроцитарную взвесь, получаемую центрифугированием цельной крови крыс при 3000 g на протяжении 3 мин с последующей трёхкратной отмывкой физиологическим раствором и поэтапным центрифугированием при тех же условиях. Из отмытых эритроцитов готовили гемолизаты, в которых биохимическими методами определяли показатели оксидативного статуса. В гемолизатах эритроцитов крыс определяли показатели ферментативного звена антиоксидантной системы: активность супероксиддисмутазы (СОД) и глутатион-зависимых антиоксидантных ферментов — глутатионпероксидазы (ГП), глутатион-S-трансферазы (ГТ), глутатион-

Таблица 1. Эффективность коррекции пептидным экстрактом гипофиза состояния процессов ПОЛ и антиоксидантной системы у крыс при обычном освещении на 30-е сутки после острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия в дозе ЛД₅₀

Table 1. Lipid peroxidation processes and antioxidant system correction efficacy in rats with a peptide extract from the pituitary gland under normal illumination on the 30th day after acute severe poisoning with sodium thiopental at a dose of LD₅₀

Исследуемые показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные подгруппы		
	Интактные ($n=6$)	Без коррекции (контроль) ($n=6$)	Коррекция пептидным комплексом гипофиза ($n=6$)
МДА, нмоль/г гемоглобина	19,4±0,5	20,7±1,1	11,2±0,3*
ДК, нмоль/г гемоглобина	2,03±0,25	2,66±0,02 [#]	1,8±0,3*
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	3964,0±333,3	3364,8±196,1	4620,9±158,9*
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	11,7±0,5	9,5±0,3 [#]	11,2±0,3*
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	141,4±5,0	113,7±9,3 [#]	172,4±20,5*
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	32,7±1,0	31,7±0,5	32,8±1,1
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,54±0,15	1,05±0,14 [#]	1,4±0,1*
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	11,3±1,4	8,4±0,5 [#]	10,8±0,7*

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3: * — достоверно в сравнении с контрольной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна–Уитни); [#] — достоверно в сравнении с интактной группой (при $p \leq 0,05$; критерий Манна–Уитни). **Note.** * — conclusive in comparison with the control group ($P \leq 0.05$; Mann–Whitney test); [#] — conclusive in comparison with the intact group ($P \leq 0.05$; Mann–Whitney test).

редуктазы (ГР) и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Г-6-ФДГ). Для оценки процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в исследуемых гемолизатах определяли также концентрацию первичных и вторичных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгатов (ДК) и малонового диальдегида (МДА). Концентрацию исследуемых продуктов и активность ферментов в гемолизате эритроцитов пересчитывали на 1 г гемоглобина. Концентрацию ДК в эритроцитах определяли методом, основанным на свойстве липидных экстрактов, содержащих гидроперекиси полиненасыщенных жирных кислот с сопряжёнными двойными связями в своей структуре, поглощать в УФ-области спектра [11]. Концентрацию МДА в гемолизате эритроцитов определяли по методу M. Uchiyama [12]. Концентрацию восстановленного глутатиона (ВГ) в гемолизате эритроцитов определяли с использованием 5,5'-ди-тио-бис(-2-нитробензойной) кислоты (ДТНБ) по методике G. L. Ellman (1959) [13]. Определение активности глутатион-S-трансферазы (ГТ) проводили по методу W. N. Habig и W. V. Jakoby [14]. Активность СОД, ГР, ГП, Г-6-ФДГ и концентрацию Hb в гемолизате эритроцитов определяли на биохимическом анализаторе «А-25», используя коммерческие наборы фирмы RanDox (Великобритания).

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программного обеспечения AtteStat, версия 13. В качестве непараметрического критерия выявления различий между малыми выборками использовали критерий Манна–Уитни. Вывод о статистической достоверности различий между группами делали для $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены данные по значениям показателей процессов ПОЛ и антиоксидантной системы у крыс, включённых в исследование подгрупп, при обычном освещении после сочетанного воздействия стресс-факторов на экспериментальных животных.

Из представленных в табл. 1 данных видно, что на 30-е сутки после острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия в дозе ЛД₅₀ в условиях обычного освещения концентрация ДК в гемолизате крови животных подгруппы без фармакологической коррекции возросла на 31,0 % в сравнении с животными интактной подгруппы ($p \leq 0,05$). Применение клеточного экстракта ги-

пофиза для коррекции достоверно снижало на 32,3% образование ДК и на 45,8% МДА в гемолизате эритроцитов животных опытной подгруппы в сравнении с аналогичными показателями животных контрольной подгруппы. Сравнение этих результатов со значениями аналогичных показателей интактных крыс свидетельствует о положительном эффекте использованной фармакологической коррекции, так как концентрации как ДК, так и МДА в гемолизате эритроцитов животных с фармакологической коррекцией находились в референтных интервалах значений данных показателей для интактных крыс.

При использовании пептидов гипофиза с целью фармакологической коррекции концентрация восстановленного глутатиона в гемолизатах эритроцитов животных опытной подгруппы достоверно возросла на 17,8% в сравнении с аналогичным показателем животных контрольной подгруппы, тогда как аналогичный показатель у животных контрольной подгруппы достоверно снижился на 18,8% в сравнении с интактными животными. Одновременно в гемолизате эритроцитов крыс с фармакологической коррекцией пептидным комплексом гипофиза активность глутатион-S-трансферазы возросла на 51,6% в сравнении с аналогичным показателем животных контрольной подгруппы, у которых активность этого фермента в гемолизате эритроцитов достоверно снижалась на 19,6% в сравнении с животными интактной подгруппы. У животных контрольной подгруппы (без фармакологической коррекции) статистически значимо на 31,8% снижалась также активность глутатионредуктазы в сравнении с животными интактной подгруппы. Использование для фармакологической коррекции пептидного комплекса гипофиза приводило к увеличению на 33,3% активности этого фермента в эритроцитах животных опытной под-

Таблица 2. Эффективность коррекции пептидным экстрактом гипофиза состояния процессов ПОЛ и антиоксидантной системы у крыс при постоянном освещении на 30-е сутки после острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия в дозе ЛД₅₀

Table 2. Lipid peroxidation processes and antioxidant system correction efficacy in rats with a peptide extract of the pituitary gland under constant illumination on the 30th day after acute severe poisoning with sodium thiopental at a dose of LD₅₀

Исследуемые показатели ($M \pm m$)	Экспериментальные подгруппы		
	Интактные ($n=6$)	Без коррекции (контроль) ($n=6$)	Коррекция пептидным комплексом гипофиза ($n=6$)
МДА, нмоль/г гемоглобина	17,6±1,1	18,8±0,4	18,2±0,6
ДК, нмоль/г гемоглобина	4,8±0,3	5,9±0,3 [#]	5,2±0,1*
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	2832,3±214,4	2503±154,5	4826,4±169,6 ^{#*}
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	10,2±0,3	8,7±0,1 [#]	13,5±0,5 ^{#*}
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	103,7±4,3	89,3±3,6 [#]	162,0±7,8 ^{#*}
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	30,2±0,5	25,8±0,3 [#]	31,8±1,1*
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,2±0,2	0,9±0,1	1,4±0,1*
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	5,1±0,7	3,7±0,4 [#]	7,4±1 ^{#*}

группы в сравнении с аналогичным показателем у животных контрольной подгруппы. Активность данного фермента в эритроцитах крыс, получивших фармакологическую коррекцию, была идентична активности фермента в эритроцитах интактных крыс. При фармакологической коррекции пептидами гипофиза в гемолизатах эритроцитов животных опытной подгруппы достоверно увеличивалась на 37,3% и активность супероксиддисмутазы в сравнении с аналогичным показателем животных контрольной подгруппы. Активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы также достоверно возрастала на 28,5% в подгруппе с использованием пептидов гипофиза в сравнении с аналогичным показателем животных контрольной подгруппы. В то время как при сравнении аналогичного показателя с этим показателем у интактных крыс было установлено, что активность данного фермента у животных контрольной подгруппы была снижена на 25,6%.

Таким образом, в условиях обычного освещения после однократного острого отравления крыс депримирующим ядом — тиопенталом натрия в дозе ЛД₅₀ использование фармакологической коррекции пептидным продуктом из гипофиза способствовало достоверному снижению повышенной в результате острой интоксикации концентрации первичных продуктов ПОЛ мембран эритроцитов — диеновых конъюгатов. При использовании для коррекции нарушенного клеточного окислительно-восстановительного баланса исследуемого биопродукта у животных опытной подгруппы в гемолизатах эритроцитов также значительно уменьшалась концентрация малонового диальдегида в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы (т.е. у животных без фармакологической коррекции). Одновременно возросла активность супероксиддисмутазы позволяющая поддерживать баланс в клетках активных форм кислорода (АФК). У животных с фармакологической коррекцией в красных клетках крови также увеличилась концентрация восстановленного глутатиона, что сви-

детельствует о повышенном расходовании внутриклеточного глутатиона в целях поддержания клеточного редокс-баланса даже через значительное время после тяжёлого отравления нейротоксикантом. При этом активность ферментов, принимающих участие в обмене глутатиона, а, соответственно, и в антиоксидантной защите — глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, глутатионтрансферазы и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, у животных с фармакологической коррекцией пептидным продуктом гипофиза также достоверно возрастала, что способствовало воспроизводству запасов внутриклеточного глутатиона и поддержанию окислительного баланса в клетках.

В табл. 2 представлены данные по значениям показателей процессов ПОЛ и антиоксидантной системы у крыс, включённых в исследование подгрупп, при постоянном освещении после сочетанного воздействия стресс-факторов на экспериментальных животных.

Представленные в табл. 2 данные демонстрируют, что в подгруппе животных, подвергнутых воздействию постоянного освещения через 1 мес после острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия, использование пептидного продукта гипофиза для коррекции окислительного статуса клеток приводило к достоверному снижению образования ДК в эритроцитах на 11,8% в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы. Существенно, что при сравнении значений данного показателя у контрольной подгруппы крыс со значениями этого показателя у интактных крыс было установлено, что в гемолизатах эритроцитов крыс контрольной подгруппы концентрация ДК оказалась повышенной на 22,9%.

Концентрация восстановленного глутатиона в гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, достоверно возросла на 55,2% в сравнении с аналогичным показателем у животных контрольной подгруппы и на 32,3% в сравнении с данным показателем у ин-

Таблица 3. Эффективность коррекции пептидным экстрактом гипофиза состояния процессов ПОЛ и антиоксидантной системы у крыс при постоянной темноте на 30-е сутки после острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD₅₀

Table 3. Lipid peroxidation processes and antioxidant system correction efficacy in rats with a peptide extract of the pituitary gland in constant darkness on the 30th day after acute poisoning with sodium thiopental at a dose of LD₅₀

Исследуемые показатели (<i>M±m</i>)	Экспериментальные подгруппы		
	Интактные (<i>n=6</i>)	Без коррекции (контроль) (<i>n=6</i>)	Коррекция пептидным комплексом гипофиза (<i>n=6</i>)
МДА, нмоль/г гемоглобина	17,4±0,8	18,2±0,6	16,0±1,0*#
ДК, нмоль/г гемоглобина	6,2±0,1	6,2±0,1	4,9±0,2*#
СОД, Ед. акт./г гемоглобина	3009,1±329,2	2684,6±168,9	4461,3±684,7*#
ВГ, мкмоль/г гемоглобина	13,2±0,8	10,0±0,3#	11,0±0,3*#
ГТ, Ед. акт./г гемоглобина	109,9±2	91,2±3,8#	151,9±3,3*#
ГП, Ед. акт./г гемоглобина	33,1±0,4	34,4±2,1#	41,6±3,4*#
ГР, Ед. акт./г гемоглобина	1,3±0,1	1,3±0,1	2,0±0,1*#
Г-6-ФДГ, Ед. акт./г гемоглобина	4,8±0,4	5,3±0,7	8,8±1,0*#

тактных крыс. Напротив, при сравнении аналогичного показателя у животных, подвергнутых сочетанному воздействию стресс-факторов и не получивших фармакологической коррекции (контрольная подгруппа), с данным показателем у интактных крыс оказалось, что концентрация восстановленного глутатиона в гемолизате эритроцитов крыс достоверно уменьшилась на 14,7%. Активность ферментов обмена глутатиона в гемолизатах эритроцитов крыс с фармакологической коррекцией пептидным продуктом достоверно повышалась в сравнении с аналогичным показателем у животных контрольной подгруппы: глутатион-S-трансферазы — на 81,4%, глутатионредуктазы — на 55,5% и глутатионпероксидазы — на 23,2%. Напротив, активность этих ферментов в гемолизатах эритроцитов крыс контрольной подгруппы (без фармакологической коррекции) достоверно снижалась. Так, у крыс без фармакологической коррекции активность глутатионпероксидазы была снижена на 14,6%, а активность глутатион-S-трансферазы на 13,8% в сравнении с аналогичными показателями у интактных крыс ($p < 0,05$). При использовании биопродукта гипофиза с целью коррекции оксидативного статуса клеток в гемолизатах эритроцитов крыс опытной подгруппы также достоверно увеличилась на 92,8% активность супероксиддисмутазы в сравнении с аналогичным показателем крыс контрольной подгруппы и на 70,4% в сравнении с аналогичным показателем интактных крыс. В подгруппе животных, получивших фармакологическую коррекцию, в гемолизатах эритроцитов достоверно возросла в два раза активность фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы в сравнении с аналогичным показателем у животных контрольной подгруппы и на 32,3% в сравнении с тем же показателем у интактных крыс.

Таким образом, фармакологическая коррекция клеточным экстрактом гипофиза клеточного оксидативного статуса, нарушенного в результате сочетанного воздействия стресс-факторов пребывания в условиях постоянного освещения и ост-

рого тяжёлого отравления тиопенталом натрия способствовала снижению первичных и вторичных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгат и малонового диальдегида в красных клетках крови, а также поддержанию необходимой концентрации восстановленного глутатиона, выполняющего в клетках функцию основного буфера для факторов оксидативного стресса. Очевидно, что это являлось следствием установленного увеличения активности ферментов, связанных с редокс-циклированием глутатиона — глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы. У животных, получивших фармакологическую коррекцию, в клетках увеличилась также активность супероксиддисмутазы, что способствовало поддержанию баланса АФК. У животных, получивших фармакологическую коррекцию, увеличилась и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы — ключевого фермента пентозофосфатного пути окисления углеводов, что способствовало адекватному функционированию системы редокс-циклирования глутатиона.

В табл. 3 представлены данные по значениям показателей процессов ПОЛ и антиоксидантной системы у крыс, включённых в исследование подгрупп, при постоянной темноте после сочетанного воздействия стресс-факторов на экспериментальных животных.

Представленные в табл. 3 данные демонстрируют, что в подгруппе крыс с фармакологической коррекцией пептидным продуктом гипофиза последствием сочетанного воздействия на экспериментальных животных стресс-факторов постоянной темноты и острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия концентрация ДК в гемолизате эритроцитов была снижена на 20,9% в сравнении с аналогичным показателем у крыс как контрольной, так и интактной подгрупп, а МДА — на 12,1% в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы и на 8,0% — в сравнении с аналогичным показателем у интактных крыс. Концентрация восстановленного глутатиона в гемолизатах эритроцитов жи-

вотных контрольной подгруппы после воздействия стресс-факторов достоверно снизилась на 24,2% в сравнении с аналогичным показателем у интактных крыс. При фармакологической коррекции пептидным продуктом гипофиза этот показатель у крыс опытной подгруппы, напротив, увеличился на 10% в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы, однако при сравнении с аналогичным показателем интактных крыс был достоверно снижен на 16,6%.

Активность глутатион-S-трансферазы в гемолизате эритроцитов крыс без фармакологической коррекции снизилась на 17% в сравнении с аналогичным показателем у интактных крыс. При использовании пептидного продукта гипофиза с целью коррекции клеточного оксидативного статуса активность глутатион-S-трансферазы в гемолизатах эритроцитов крыс опытной подгруппы была достоверно повышена на 66,5% в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы и на 38,2% в сравнении с аналогичным показателем у интактных крыс. Активность глутатионпероксидазы в гемолизатах эритроцитов крыс контрольной подгруппы достоверно повышалась на 3,9% в сравнении с аналогичным показателем интактных крыс. Активность этого фермента в гемолизатах эритроцитов крыс опытной подгруппы была достоверно повышена на 20,9% в сравнении с аналогичным показателем крыс контрольной подгруппы и на 25,6% в сравнении с интактными крысами. Активность глутатионредуктазы в гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, достоверно возросла на 53,8% в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы. В случае сравнения с аналогичным показателем у интактных крыс было также установлено увеличение активности этого фермента. Активность супероксиддисмутазы в гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, достоверно повышалась на 66,2% в сравнении с аналогичным показателем у крыс контрольной подгруппы. У крыс после фармакологической коррекции при сравнении результатов определения активности супероксиддисмутазы в гемолизатах эритроцитов с аналогичными данными у интактных крыс было также установлено достоверное увеличение на 48,2% активности этого фермента в гемолизатах эритроцитов. В гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, достоверно увеличивалась и активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы: на 66,0% в сравнении с аналогичным показателем для подгруппы крыс без фармакологической коррекции и на 83,3% в сравнении с интактными крысами.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют, что у экспериментальных животных,

подверженных сочетанному воздействию условий постоянной темноты и острого отравления тиопенталом натрия в дозе LD_{50} и получивших фармакологическую коррекцию пептидным продуктом гипофиза, значительно уменьшалась концентрация первичных и вторичных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгат и малонового диальдегида. Антиоксидантный эффект (снижение в гемолизатах эритроцитов крыс с фармакологической коррекцией изначально повышенных концентраций первичных продуктов ПОЛ) от использования в целях коррекции пептидного продукта гипофиза при постоянном отсутствии освещения был более выражен, чем в условиях постоянного наличия освещения. Концентрация восстановленного глутатиона в клетках животных, получивших фармакологическую коррекцию, также увеличивалась в сравнении с аналогичным показателем у животных без фармакологической коррекции, но не достигала уровня восстановленного глутатиона в гемолизатах эритроцитов интактных крыс. При фармакологической коррекции пептидным продуктом гипофиза возрастала также активность ферментного звена антиоксидантной защиты клеток. Так, в гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, было констатировано увеличение активности супероксиддисмутазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и ферментов обмена глутатиона — глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы. Очевидно, что фармакологическая коррекция пептидным продуктом гипофиза способствует восстановлению клеточного оксидативного статуса, нарушенного сочетанным воздействием на экспериментальных животных фактора десинхроноза (пребывание в условиях постоянной темноты) и острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия. Существенно, что позитивный эффект фармакологической коррекции клеточного оксидативного статуса у крыс с воздействием постоянного отсутствия освещения менее выражен, чем у крыс с воздействием постоянного наличия освещения, что, вероятно, связано с большим влиянием на оксидативный статус клеток условий постоянной темноты как фактора десинхроноза.

Резюмируя данные табл. 1–3 и выше представленную их интерпретацию, можно констатировать наличие позитивного эффекта фармакологической коррекции пептидным продуктом гипофиза оксидативного статуса клеток, нарушенного в результате сочетанного воздействия на крыс факторов десинхроноза (пребывание в условиях изменённого светового режима) и острого тяжёлого отравления депримирующим ядом (тиопентал натрия в дозе LD_{50}). Результаты выполненного исследования свидетельствуют, что пептидный продукт, полученный из гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*), в качестве сред-

ства коррекции клеточного оксидативного статуса эффективен при сочетанном воздействии на крыс острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия и факторов десинхроноза, моделируемого различными условиями внешнего освещения. Антиоксидантный эффект пептидного продукта гипофиза проявлялся значительным уменьшением в гемолизатах эритроцитов крыс с фармакологической коррекцией концентрации первичных и вторичных продуктов ПОЛ — диеновых конъюгат и малонового диальдегида, а также увеличением концентрации восстановленного глутатиона. При фармакологической коррекции пептидным продуктом гипофиза возрастала также активность ферментного звена антиоксидантной защиты клеток. В частности, в гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, было констатировано существенное увеличение активности супероксиддисмутазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы и ферментов обмена глутатиона — глутатион-S-трансферазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы. Позитивный эффект фармакологической коррекции клеточного оксидативного статуса, нарушенного в результате сочетанного воздействия на крыс факторов десинхроноза и острого тяжёлого отравления токсикантом депримирующего типа действия, сохранялся на протяжении длительного времени (до 30 сут) после применения данного биологического продукта в качестве средства коррекции. Полученные результаты также свидетельствуют, что фармакологическая коррекция пептидным продуктом гипофиза клеточного оксидативного статуса способствует поддержанию в клетках животных опытной подгруппы концентрации основного клеточного буфера — восстановленного глутатиона на достаточном уровне, тем самым сохраняя клеточный редокс-баланс.

В последние годы появляется всё больше данных, свидетельствующих о наличии взаимосвязи между циркадианными (циркадными) ритмами и состоянием оксидативного статуса клеток. Существование такой взаимосвязи неудивительно, так как для большинства организмов как дневных, так и ночных, характерны ежедневные колебания (или ритмичные изменения) в потреблении энергии, двигательной активности, реакции на воздействие различных экзогенных и эндогенных факторов, способных влиять на клеточный оксидативный статус. Существенно, что циркадианный осциллятор, выполняющий в организме функцию своеобразных биологических часов, участвует в контроле уровня в клетках многих антиоксидантных белков и кофакторов, необходимых для нормального протекания окислительно-восстановительных клеточных реакций. И наоборот, равновесие оксидативных и антиоксидативных

процессов в клетках обеспечивает циркадианный осциллятор необходимыми редокс-чувствительными транскрипционными факторами и ферментами [15]. Следовательно, моделируя сочетанные стресс-воздействия на состояние оксидативного статуса клеток, уместно использовать условия изменённого светового режима при содержании экспериментальных животных.

По результатам проведённых нами ранее исследований было установлено, что однократное острое отравление тиопенталом натрия в условиях длительного изменения светового режима приводит к развитию тканевой гипоксии и оксидативного стресса [16]. При этом нарушается баланс между окислительными и антиокислительными клеточными системами, наблюдается усиленное образование в клетках АФК и активизация процессов ПОЛ клеточных мембран [4]. Являясь важнейшими факторами оксидативного стресса, АФК одновременно индуцируют синтез клеточных метаболитов, которые участвуют в регуляции различных внутриклеточных биологических процессов, что способствует, в том числе, адаптации клеток к изменённому световому режиму. У млекопитающих белки часовых генов, относящиеся к семейству транскрипционных факторов, содержат домены bHLH (спираль-петля спираль) b PAS-мотив (Per-Arnt-Sim). Домен PAS активируется светом, способен связывать гем, кислород, угарный газ, оксид азота, взаимодействует со стероидами, пептидными гормонами, реагирует на изменение мембранного потенциала [17]. Фоточувствительный PAS-домен присутствует во многих белках, контролирующих энергетический обмен, который, в свою очередь, связан с концентрацией кислорода в клетке, наличием субстратов для окисления и получения восстановительных эквивалентов [17]. Вероятно, одновременное изменение светового режима и воздействие на клетки организма экспериментальных животных депримирующего токсиканта (тиопентал натрия в дозе ЛД₅₀) способствует активации белков, поддерживающих не только редокс-статус клетки, но и выполняющих функцию локальных циркадианных осцилляторов. Очевидно, что при длительном пребывании экспериментальных животных в условиях нарушенного светового режима ресурсы антиоксидантной системы организма (включая ресурсы внутриклеточных антиоксидантных процессов) снижаются, и факторы оксидативного стресса негативно воздействуют на биомембраны и внутриклеточные биохимические процессы.

Общепризнано также значение системы глутатиона в поддержании редокс-статуса клетки и в регуляции многих клеточных биохимических процессов (например, установлена важность этой системы в поддержании тиол-дисульфидного

равновесия молекул белков). Имеются также данные литературы, указывающие на регулирующее влияние системы глутатиона на углеводный, липидный и белковый обмен путём изменения активности тиол-зависимых ферментов. Система глутатиона имеет большое значение и в процессах детоксикации ксенобиотиков и их метаболитов [18]. Изучаются различные аспекты функций глутатиона при старении клеток и адаптации клеток к гипоксии [19]. В частности известно, что регуляция в клетках тиол-дисульфидного равновесия осуществляется за счёт превращения восстановленной формы глутатиона в окисленную. Процесс модификации сульфгидрильных групп играет большую роль в редокс-регуляции внутриклеточных биохимических процессов. Внутриклеточная концентрация глутатиона в 500–1000 раз превышает уровень НАДФ⁺+Н⁺ [18]. Редокс-система глутатиона включает в себя глутатион, глутатионредоксины и глутатионредуктазу. Глутатионредоксины катализируют восстановление дисульфидов, используя при этом восстановленный глутатион. Образующийся в этих реакциях окисленный глутатион в свою очередь восстанавливается глутатионредуктазой, которая в качестве кофермента использует НАДФ⁺+Н⁺. Основным источником НАДФ⁺+Н⁺ является пентозофосфатный путь окисления углеводов. Активность ключевого фермента данного цикла — глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы лимитирует возможности редокс-циклирования глутатиона. Существенно, что в нашем исследовании у крыс с фармакологической коррекцией клеточного окислительного статуса пептидным продуктом гипофиза активность как глутатионредуктазы, так и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы достоверно увеличивалась.

Интенсивное превращение восстановленного глутатиона в дисульфид в результате глутатионпероксидазной реакции имеет следствием уменьшение соотношения «восстановленный глутатион/окисленный глутатион», именно поэтому наращивание объёма восстановленного глутатиона в клетке следует считать компенсаторной реакцией антиоксидантной защиты клетки при её адаптации к окислительному стрессу. В нашем исследовании концентрация восстановленного глутатиона в гемолизате эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию пептидным продуктом гипофиза, достоверно возросла, что свидетельствует о повышенном расходовании внутриклеточного глутатиона для поддержания редокс-баланса даже

через значительное время после сочетанного воздействия стресс-факторов изменённого светового режима и острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия. При этом активность ферментов, принимающих участие в обмене глутатиона, а соответственно, и в антиоксидантной защите — глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы и глутатионтрансферазы, у животных с фармакологической коррекцией пептидным продуктом гипофиза также достоверно увеличилась. Установлено, что глутатионпероксидаза утилизирует перекиси полиненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов, а глутатионтрансфераза способна проявлять независимую пероксидазную активность и участвует в утилизации избытка перекиси водорода, что является следствием удаления АФК супероксиддисмутазой. Учитывая большую концентрацию глутатионтрансферазы в клетке, особенно в ядре, этот фермент является основным ферментом антиоксидантной защиты ядра.

Заключение

Исследование биологической активности клеточного экстракта гипофиза Северного оленя (*Rangifer tarandus*) в условиях *in vivo* при одновременном воздействии на животных факторов десинхроноза и острой тяжёлой интоксикации тиопенталом натрия на экспериментальной модели нарушений клеточного окислительного статуса позволило установить наличие антиоксидантной активности у изученного пептидного продукта. Так, интраназальное введение крысам данного пептидного продукта гипофиза на протяжении двух недель после острого тяжёлого отравления тиопенталом натрия в условиях длительного воздействия светового десинхроноза имело следствием снижение в гемолизатах эритроцитов крыс, получивших фармакологическую коррекцию, первичных и вторичных продуктов ПОЛ, нормализацию показателей ферментативного компонента системы антиоксидантной защиты и редокс-баланса красных клеток крови, нарушенных в условиях сочетанного воздействия на организм стресс факторов различной природы, что является необходимым условием для обеспечения нормальной жизнедеятельности организма и свидетельствует о перспективности поиска средств увеличения резистентности организма к неблагоприятным воздействиям факторов внешней среды среди биологических продуктов с антиоксидантной активностью.

Литература/References

1. Kashuro V.A., Glushkov S.I., Novikova T.M., Aksenov V.V. Cardioprotective effect of cytoflavine on a model of doxorubicin-induced cardiomyopathy Eksp Klin Farmakol. 2010; 73 (3): 15–17. PMID: 20408423.

2. Giordano C., Marchio M., Biagini G. Neuroactive peptides as putative mediators of antiepileptic ketogenic diets Front Neurol. 2014; 5: 63: 1–14. doi:10.3389/fneur.2014.00063.
3. Fosgerau K., Hoffmann T. Peptide therapeutics: current status and future directions Drug Discov Today. 2015; 20 (1): 122–128. doi: 10.1016/j.drudis.2014.10.003.

4. Батоцыренова Е.Г., Кострова Т.А., Жилиева Е.Х. и др. Окислительный стресс в психиатрии и неврологии, Санкт-Петербург 2016; 19–20. [Batotsyrenova E.G., Kostrova T.A., Zhilyeva E.Kh. i dr. Okislitel'nyj stress v psikiatrii i nevrologii, Sankt-Peterburg 2016; 19–20. (in Russian)]
5. Батоцыренова Е.Г., Кацууро В.А., Иванов М.Б. Маркеры энергетического обмена в условиях нарушения циркадианных ритмов. Вопросы биол мед фарм химии. 2017; 20 (11): 39–42. [Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Ivanov M.B. Markery energeticheskogo obmena v usloviyakh narusheniya tsirkadiannykh ritmov. Voprosy Biol Med Farm Khimii. 2017; 20 (11): 39–42. (in Russian)]
6. Кострова Т.А., Жилиева Е.Х., Лисицкий Д.С. и др. Взаимодействие нервной и иммунной систем в норме и при патологии, СПб.: 2017; 135. [Kostrova T.A., Zhilyeva E.Kh., Lisitskiy D.S. i dr. Vzaimodejstvie nervnoj i immunnnoj sistem v norme i pri patologii, St-Peterburg: 2017; 135. (in Russian)]
7. Швецов А.В., Дюжицова Н.А., Савенко Ю.Н., Батоцыренова Е.Г., Кацууро В.А. Влияние экспериментальной комы на экспрессию белка BCL-2 и KASP3-3,9 в мозге крыс. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2015; 160 (8): 178–181. [Shvetsov A.V., Dzyuzhikova N.A., Savenko Yu.N., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A. Vliyaniye eksperimental'noj komy na ekspressiyu belka BCL-2 i KASP3-3,9 v mozge krysov. Bjulleten' Eksperimental'noj Biologii i Meditsiny. 2015; 160 (8): 178–181. (in Russian)]
8. Klimina K.M., Batotsyrenova E.G., Yunes R.A., Gilyeva E.H., Poluektova E.U., Kostrova T.A., Kudryavtseva A.V., Odorskaya M.V., Kashuro V.A., Kasianov A.S., Ivanov M.B., Danilenko V.N. The effects of desynchronization on the gut microbiota composition and physiological parameters of rats. BMC Microbiology. 2019;19: 160. doi: 10.1186/s12866-019-1535-2.
9. Носов А.В., Башарин В.А., Бонитенко Е.Ю., Белякова Н.А. Коррекция нарушений энергетического обмена при острых отравлениях депримирующими ядами. Medline.ru 2014; 15: 195–208. [Nosov A.V., Basharin V.A., Bonitenko E.Yu., Belyakova N.A. Korrektsiya narusheniy energeticheskogo obmena pri ostryykh otravleniyakh depimiruyushchimi yadami. Medline.ru 2014; 15: 195–208. (in Russian)]
10. Batotsyrenova E.G., Zolotoverkhaya E.A., Kashuro V.A., Sharabanov A.V. Changes of biochemical parameters in blood serum rats under chronic light desynchronization. Biomeditsinskaya Khimiya. 2020; 66 (6): 450–455. doi: 10.18097/PBMC202006606450.
11. Стальная И. Д. Современные методы в биохимии: книга. Под ред. В. Н. Ореховича, М.: Медицина. 1977. [Stal'naya I. D. Sovremennyye metody v biokhimii: kniga. Ed. V. N. Orekhovicha, Moscow: Meditsina. 1977. (in Russian)]
12. Mihara M., Uchiyama M. Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test Anal Biochem.1978; 86 (1): 271–278. doi: 10.1016/0003-2697(78)90342-1.
13. Ellman G. L. Tissue sulfhydryl groups. Arch Biochem Biophys. 1959; 2 (1): 70–77. doi: 10.1016/0003-9861(59)90090-6.
14. Habig W. H., Jakoby W. B. Assays for differentiation of glutathione S-transferases. Methods Enzymol. 1981; 77: 398–405. doi: 10.1016/s0076-6879(81)77053-8.
15. Ray S., Reddy A.B. Cross-talk between circadian clocks, sleep-wake cycles, and metabolic networks: Dispelling the darkness Bioessays. 2016; 38: 394–405. doi: 10.1002/bies.201500056.
16. Кострова Т.А., Батоцыренова Е.Г., Кацууро В.А., Долго-Сабуров В.Б., Степанов С.В., Золотоверхая Е.А., Щепеткова К.М. Оценка биохимических показателей в тканях головного мозга у крыс в отдаленный период после тяжелого отравления тиопенталом натрия. Медицина экстремальных ситуаций. 2019; 21 (3): 429–435. [Kostrova T.A., Batotsyrenova E.G., Kashuro V.A., Dolgo-Saburov V.B., Stepanov S.V., Zolotoverkhaya E.A., Shchepetkova K.M. Otsenka biokhimicheskikh pokazatelej v tkanyakh golovnogogo mozga u krysov v otdalennyj period posle tyazhelogo otravleniya tiopentalom natriya. Meditsina Ekstremal'nykh Situatsij. 2019; 21 (3): 429–435. (in Russian)]
17. Brancaccio M., Enoki R., Mazuski C. N., Jones J., Evans J.A., Azzi A. Network-mediated encoding of circadian time: the suprachiasmatic nucleus (SCN) from genes to neurons to circuits, and back. J Neurosci. 2014; 34 (46): 15192–15199. doi: 10.1523/JNEUROSCI.3233-14.2014.
18. Кацууро В.А. Патогенетическое и диагностическое значение системы глутатиона в оценке цитотоксического действия противоопухолевых препаратов. Автореф. дис. д-ра мед. наук, СПб.: 2009; 14. [Kashuro V.A. Patogeneticheskoe i diagnosticheskoe znachenie sistemy glutationa v otsenke tsitotoksicheskogo dejstviya protivopukholevykh preparatov. Avtopref. d. d-pa med. nauk, SPb.: 2009; 14. (in Russian)]
19. Москалев А.А. Старение и гены. СПб.: Наука. 2008; 358. [Moskalev A.A. Starenie i geny. SPb.: Nauka. 2008; 358. (in Russian)]

Информация об авторах

Батоцыренова Екатерина Геннадьевна — к. б. н., доцент кафедры биологической химии Федерального государственного бюджетного учреждения высшего образования «Санкт-Петербургский государственный Педиатрический медицинский университет», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Кацууро Вадим Анатольевич — д. м. н., заведующий лабораторией биохимической токсикологии и фармакологии, ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Шарабанов Андрей Вячеславович — научный сотрудник ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация

Козлов Виктор Константинович — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии им. академика С. Н. Голикова Федерального медико-биологического агентства», Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0002-5751-215X

Коваленко Алексей Леонидович — д. б. н., к. х. н., ведущий научный сотрудник Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Институт токсикологии Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУН ИТ ФМБА России), Санкт-Петербург, Российская Федерация. ORCID: 0000-0003-3695-2671

About the authors

Batotsyrenova Ekaterina Gennadievna — Ph. D. in biology, St. Petersburg State Pediatric Medical University of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, St. Petersburg, Russian Federation

Kashuro Vadim Anatolyevich — D. Sc. in medicine, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Sharabanov Andrey Vyacheslavovich — Researcher at the Scientific and Clinical Center of Toxicology named after academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation

Kozlov Viktor Konstantinovich — D. Sc. in medicine, Professor, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after academician S.N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0002-5751-215X

Kovalenko Alexey Leonidovich — D. Sc. in biology, Ph. D. in chemistry, Scientific and Clinical Center of Toxicology named after academician S. N. Golikov of the Federal Medical and Biological Agency, St. Petersburg, Russian Federation. ORCID: 0000-0003-3695-2671