На правах рукописи

Щербаков Денис Леонидович

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук

Екатеринбург – 2015

Работа выполнена на кафедре биохимии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации и в лаборатории антивозрастных технологий ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (г.Екатеринбург)

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор **Мещанинов Виктор Николаевич**

доктор медицинских наук, профессор,
член-корреспондент РАН **Ястребов Анатолий Петрович**

Официальные оппоненты:
доктор медицинских наук, профессор, зав. кафедрой биохимии ФГБОУ ВПО «Уральский государственный университет физической культуры и спорта» Министерства спорта РФ **Львовская Елена Ивановна**

доктор биологических наук,
зав. клинико-биохимической лаборатории
ФГБУ «Уральский НИИ травматологии
и ортопедии им. В.Д. Чаклина» Минздрава РФ **Трифонова Елена Борисовна**

Ведущая организация: ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава РФ (г. Челябинск).

Защита диссертации состоится «30» марта 2015 года в _____ часов на заседании Совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктор наук Д 004.027.01 при ФГБУН Институте иммунологии и физиологии УрО РАН по адресу: 620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, д.106.

С диссертацией и авторефератом, можно ознакомиться в Центральной научной библиотеке УрО РАН (620041, г.Екатеринбург, ГСП-593, ул.Софьи Ковалевской-Академическая, 22/20), на сайте ИИФ УрО РАН – http://www.iip.uran.ru и на сайте ВАК - http://www.ed.gov.ru

Автореферат разослан «____» _____ 2015 года

Ученый секретарь Совета Д 004.027.01
при ИИФ УрО РАН,
доктор медицинских наук, профессор **И.А. Тузанкина**

Общая характеристика работы

Актуальность проблемы. Изменение интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) имеет решающее значение в реализации механизмов старения организма (Эммануэль Н.М., 1984; Ястребов А.П. и др., 2005). На процессы ПОЛ влияют многие факторы, один из них - это стресс-реакция, вызванная экстремальным воздействием (Меерсон Ф.З., 1988; Нестеров Ю.В. и др., 2012; Col C. et al., 2010; Solhi H. et al., 2014). По данным ряда авторов, с развитием стресс-реакции в организме животных и человека происходит активация ПОЛ (Анисимов В.Н., 2008; Москалев А.А., 2008; Владимиров Ю.В., 2009; Мещанинов В.Н., 2010; Jain K. et al., 2013; Wang Z. et al., 2014).

Стресс-воздействие приводит к развитию в организме общего адаптационного синдрома, ведущую роль в котором играет вегетативная нервная система (Селье Г. 1982; Юшков Б.Г. и др., 2004; Николаева-Балл Д.Р., 2012; Harrison N.A. et al., 2014; Scheff J.D. et al., 2014). Известно, что вегетативная нервная система влияет на ряд функций организма (Гольдберг Е.Д. и др., 1997; Юшков Б.Г. и др., 2004; Дыгай А.И. и др., 2009; Kenney M.J. et al., 2014), но о влиянии на систему перекисного окисления липидов и антиокислительной активности (ПОЛ/АОА) при стрессе данных не достаточно. Нейромедиаторы симпатического отдела вегетативной нервной системы (адреналин, норадреналин) участвуют в изменениях системы ПОЛ/АОА при стрессе (Купреева М.С. и др., 2008; Коваленко, В.Н. и др., 2012; Brindle R.C. et al., 2014; Mai A. et al., 2014; Yilmaz B. et al., 2014), о влиянии нейромедиаторов парасимпатического отдела (ацетилхолин) на изменения интенсивности процессов ПОЛ информации у других авторов не найдено. К тому же, в литературных источниках, в основном, обсуждается вопрос о влиянии адреналина и ацетилхолина на ПОЛ организмов зрелого возраста, но в возрастном аспекте при сравнении организмов зрелого и старого возраста информации не достаточно. При этом ряд заболеваний, связанных с вынужденной гипокинезией организма (травмы, постинсультные состояния), сопровождается активацией ПОЛ, особенно - у пациентов пожилого возраста.

В литературе имеются данные о синтетических препаратах, адресно-орентированных на устранение в организме многочисленных конкретных нозологий, вызванных иммобилизационным стресс-воздействием (Судаков К.В., 2012; Tanaka M. et al., 2014) и активацией ПОЛ (Владимиров Ю.В., 2009; Кучин А.В. и др., 2011; Silveira P.C. et al., 2014; Wilkinson M. et al., 2014), но слабо разработан вопрос о воздействиях на стресс-реакцию, как единую этио-патофизиологическую основу этих патологий. У ряда авторов

обсуждается вопрос об адаптагенных и антиоксидантных свойствах нейрометаболита мелатонина при экстремальных воздействиях, и в частности, при вынужденной иммобилизации организма (Тагашева Р.Г., 2009; Анисимов В.Н и др. 2012; Grewal P. et al., 2014; Kouno Y. et al., 2014; Rahman M.S. et al., 2014). Мелатонин является производным аминокислоты L-триптофан, образование которого в организме может усиливаться под воздействием никотиновой кислоты. Никотиновая кислота по принципу отрицательной обратной связи блокирует ключевой фермент метаболизма L–триптофана – триптофан-2,3-диоксигеназу (КФ1.13.11.11). В результате чего метаболизм L–триптофана может переключаться на серотониновый путь, с увеличением в организме его продуктов, таких как серотонин и мелатонин с проявлением адаптагенного и антиоксидантного эффектов (Fukuwatari T. 2013; Badawy A.A., 2014; Matsuda H. 2014; Myint A.M. et al., 2014; O'Brien T. et al., 2014). У других авторов мало информации о совместном влиянии L-триптофана и никотиновой кислоты на изменения в системе ПОЛ/АОА и липидного состава крови, вызванных стресс-воздействием, особенно в возрастном аспекте.

Цель работы. Выявить возрастные особенности изменений системы «перекисное окисление и антиокислительная активность» в организме крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и в условиях коррекции нейромедиаторами.

Задачи исследования:

1. Оценить влияние иммобилизационного стресс-воздействия на изменения интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в периферической крови и костном мозге крыс зрелого и старого возраста.
2. Исследовать действие адреналина и ацетилхолина на изменения интенсивности процессов ПОЛ и АОА при иммобилизационном стресс-воздействии в периферической крови и костном мозге крыс зрелого и старого возраста.
3. Изучить действие адреналина и ацетилхолина на изменения интенсивности процессов ПОЛ в миелокариоцитах зрелых и старых крыс in vitro.
4. Определить влияние сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты на изменения активности процессов ПОЛ и АОА в системе крови, печени и головном мозге у крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии.
5. Оценить действие сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты на изменения липидного и липопротеидного состава периферической крови крыс зрелого и старого возраста при иммобилизационном стресс-воздействии.

Научная новизна. Было выявлено, что иммобилизационное стресс-воздействие вызывает фазные изменения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в системе крови крыс, которые соответствуют стадиям стресс-реакции, с увеличением возраста у старых крыс активация ПОЛ происходила на 6 часов раньше, чем у зрелых крыс.

Установлена индуцирующая роль адреналина и ацетилхолина в активации ПОЛ в межклеточной среде костного мозга с последующим увеличением ПОЛ в миелокариоцитах и периферической крови. Впервые показано, что при стресс-воздействии в системе крови крыс адреналин приводил к ускорению активации процессов ПОЛ и АОА, а ацетилхолин, напротив - вызывал замедление. В исследованиях in vitro впервые показано, что с возрастом уменьшался вклад парасимпатической нервной системы и увеличивался вклад симпатической нервной системы в активацию ПОЛ в миелокариоцитах.

Впервые были продемонстрированы антиоксидантные свойства сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты. Никотиновая кислота, действуя на метаболизм L-триптофана, увеличивала неферментативную антиокислительную защиту организма крыс, особенно в зрелом возрасте. Впервые выявлено гиполипидемическое действие сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты в условиях стресса, особенно в старом возрасте.

Практическая значимость работы. Полученные результаты позволят в клинике с помощью сочетания L-триптофана и никотиновой кислотой превентивно корректировать ряд патологических состояний организма (травмы, постинсультные состояния, дегенеративные заболевания опорно-двигательного аппарата), сопровождающихся вынужденной иммобилизацией и активацией ПОЛ у пациентов, с учетом их возраста. Результаты исследования могут быть использованы при разработке новых методов увеличения резистентности организмов зрелого и старого возраста к действию различных экстремальных факторов. Обоснована целесообразность возможного применения сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты в качестве антиоксидантного и гиполипидэмического, профилактического средства у лиц зрелого и пожилого возраста.

Положения, выносимые на защиту:

1. Стресс-воздействие вызывает фазные изменения процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в системе крови крыс, которые соответствуют стадиям стресс-реакции; с увеличением возраста у старых крыс происходит более ранняя активация процессов ПОЛ.

2. Нейромедиаторы вегетативной нервной системы участвуют в изменениях интенсивности ПОЛ: с возрастом в системе крови крыс наблюдается ослабление влияния парасимпатической нервной системы и усиливается - симпатической, что может приводить к возраст-зависимым изменениям интенсивности процессов ПОЛ при стресс-воздействии.

3. Влияние сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.) при стресс-воздействии на зрелых и старых крыс проявляется в виде антиоксидантного эффекта; с увеличением возраста у старых крыс сочетание Трп+Н.к. нормализует липопротеидный состав крови, демонстрируя гиполипидемический геропрофилактический эффект.

Внедрение результатов исследования. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе на кафедрах патологической физиологии и биохимии ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, в научно-исследовательской деятельности лаборатории антивозрастных технологий ГАУЗ СО «Институт медицинских клеточных технологий» (г.Екатеринбург).

Апробация работы. Материалы диссертации докладывались на: 54 научной конференции студентов и молодых ученых УГМА «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Екатеринбург 1999); 55 научной конференции студентов и молодых ученых УГМА «Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения» (Екатеринбург, 2000); Межобластной научно-практической конференции «Геронтология и гериатрия. Медицинское обслуживание ветеранов воин» (Екатеринбург, 2000); 6 Европейском конгресс по клинической геронтологии (Москва, 2002); Всероссийской научно-практической конференции «Актуальные вопросы современной биохимии» (Киров, 2007); Научно-практической конференции и школы с международным участием «Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: от теории к практике», посвященной памяти академика В.В. Фролькиса (Киев, 2013); Российской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы медицинской биохимии и клинической лабораторной диагностики», посвященной памяти профессора Д.М. Зубаирова (Казань, 2013); 3 международной конференции «Генетика старения и долголетия» (Сочи, 2014).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 20 работ, из них 4 в журналах рекомендованных ВАК. Получено положительное решение о выдаче патента на промышленный образец (заявка № 2014504302, схема «Возрастные особенности участия симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы в

изменении интенсивности процессов ПОЛ системы крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии»).

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 168 страницах текста, содержит 42 таблицы и 27 рисунков. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания методов исследования, трех глав собственных исследований, выводов, заключения и списка литературы, включающего 186 отечественных и 145 иностранных публикаций.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Методические вопросы исследования

Работа была проведена на 410 крысах-самцах линии Вистар зрелого (8–10 месяцев, массой 200–250 г) и старого (19–22 месяца, массой 350–500 г) возрастов. Все исследования были выполнены в соответствии общепринятыми этическими нормами и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях. В соответствии с задачами исследования экспериментальная часть была разделена на три части.

1. *Изучение влияния иммобилизационного стресс-воздействия на изменения активности процессов ПОЛ и АОА в системе крови зрелых и старых крыс (рисунок 1).* Иммобилизация крыс проводилась по методике, описанной у ряда авторов, путем полного обездвиживания в пластиковых пеналах на протяжении 12 часов (Меерсон Ф.З., 1981; Ведяев Ф.П. и др., 1983; Бузуева И.И. и др., 2010; Брюхин Г.В. и др., 2013; McEwen B.S. et al., 1995; Wood G.E. et al., 2008; Weissman B.A. et al., 2009; Lin H. et al., 2014).

возраст крыс	контроль	иммобилизация		период после иммобилизации			
	время от начала эксперимента						
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
зрелые	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.
старые	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.	10 шт.

Рисунок 1 – Количество и группы крыс в экспериментальном моделировании стресс-реакции с помощью иммобилизационного воздействия

В исследовании использовалась периферическая кровь и костный мозг. Костный мозг извлекали из бедренных костей, после взвешивания и суспендирования в физрастворе его

центрифугировали для получения фракции миелокариоцитов.

2. Исследование действия нейромедиаторов вегетативной нервной системы (адреналин, ацетилхолин) на изменения процессов ПОЛ и АОА при иммобилизационном стресс-воздействии в системе крови крыс разного возраста (рисунок 2).

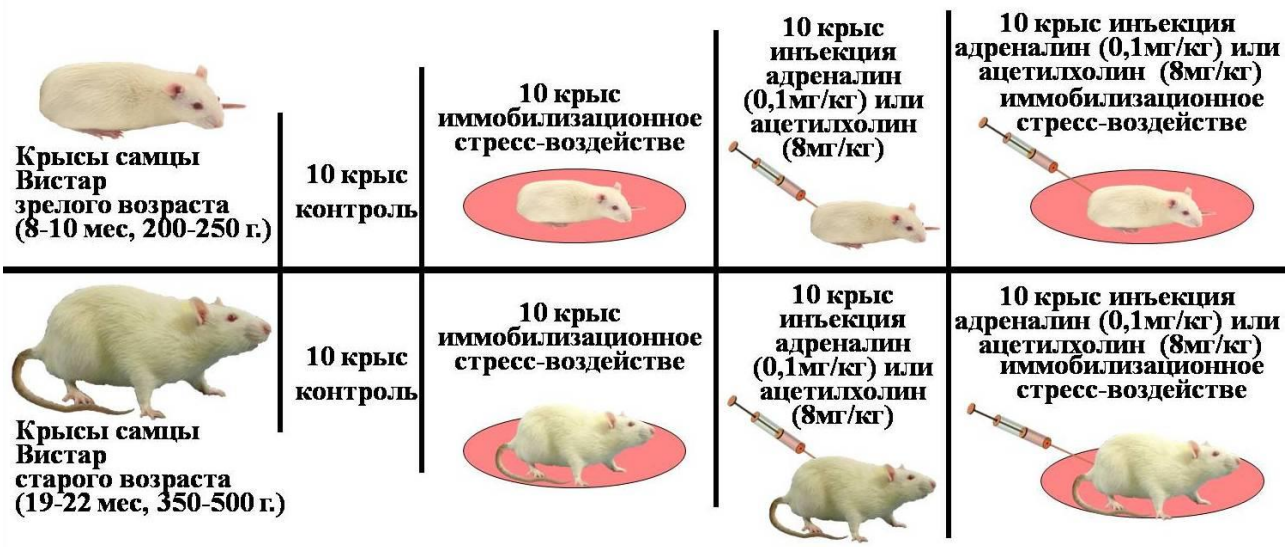

Рисунок 2 – Количество и группы крыс при исследовании влияния адреналина и ацетилхолина в условиях иммобилизационного стресс-воздействия

Инъекции нейромедиаторов проводились подкожно в утреннее время, в следующих дозировках: ацетилхолина хлорида 1,25% раствора 8 мг/кг; адреналина гидрохлорида 1% раствора 0,1 мг/кг. Дозировки адреналина и ацетилхолина выбраны в соответствии с рекомендациями других авторов (Климин В.Г. и др., 1997; Волчегорский И.А. и др., 2000; Судаков Н.П. и др., 2013; Шканд Т.В. и др., 2013; Koh H.J. et al., 2007; Moris K.A. et al., 2013).

Дополнительно проведены эксперименты in vitro по инкубации миелокариоцитов ($4x10^7$ клеток/мл) крыс разного возраста с адреналином ($1,6x10^8$ молекул/мл) и ацетилхолином ($8x10^7$ молекул/мл). Миелокариоциты инкубировали в ячейке хемилюминометра ХЛ 1420.1.

3. Изучение влияния сочетания L–триптофана и никотиновой кислоты (Трп + Н.к.) на изменения интенсивности процессов ПОЛ и АОА у крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии (рисунок 3).

Инъекцию L-триптофана с никотиновой кислотой проводили подкожно в утреннее время контрольным и опытным крысам: 1,3% раствор L-триптофана в дозировке 60 мг/кг; 1% раствор никотиновой кислоты в дозировке 10 мг/кг. Количество L-триптофана и никотиновой кислоты для инъекций были выбраны в соответствии с максимальной общепринятой суточной дозой этих веществ для человека. При расчете дозировки для крыс использовался коэффициент пересчета равноэффективных доз (Волчегорский И.А. и др., 2000).

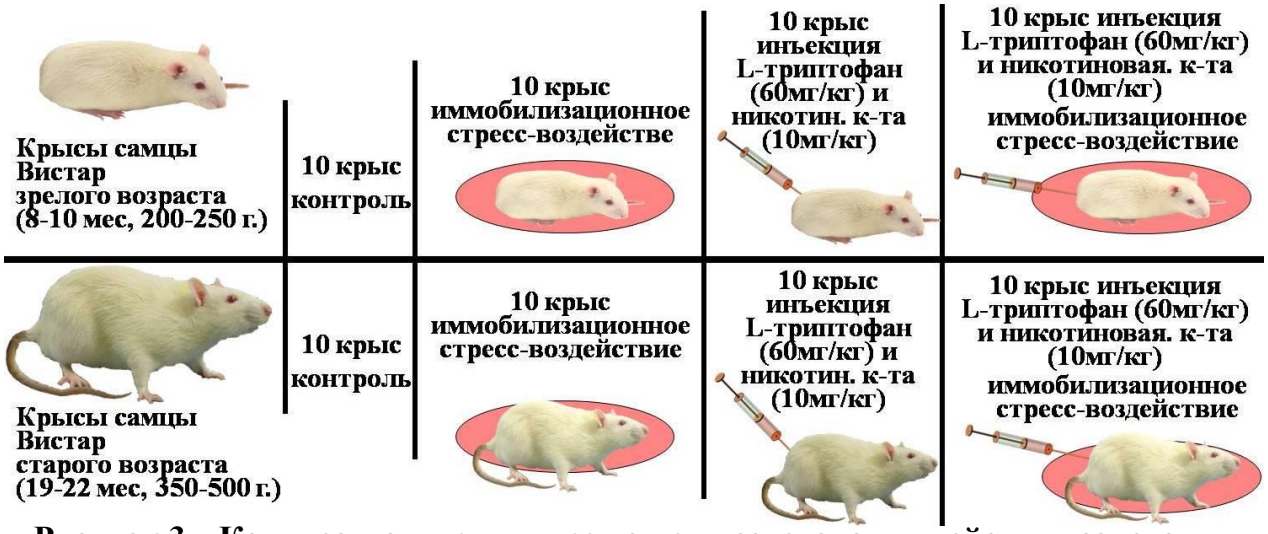

Рисунок 3 – Количество и группы крыс при исследовании действия сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты при иммобилизационном стресс-воздействии

В работе использовано четыре лабораторно-диагностических панели. **Первая лабораторно-диагностическая панель** – это биохимическое исследование показателей ПОЛ в периферической крови и костном мозге крыс. Хемилюминесцентный метод с индуцированием 3% перекиси водорода (Серкиз Я. И. и др., 1984; Журавлев А.И. и др., 1985; Владимиров Ю.А., 1998). Измерения проводились с помощью хемилюминометра ХЛ 1420.1 и люминометра - фотометра Lucy 3 с двойным диспенсером и встроенным компьютером. Определение диеновой конъюгации высших ненасыщенных жирных кислот (Стальная И.Д. 1977; Каган В.Е. и др., 1986; Волчегорский И.А. и др., 2005) и гидроперекисей липидов (Стальная И.Д. и др., 1977; Волчегорский И.А. и др., 2005; Львовская Е.И. и др., 2010) проводили спектрофотометрическим методом. Малоновый диальдегид также определяли спектрофотометрическим методом (Стальная И.Д. 1977; Каган В.Е. и др., 1986; Камышников В.С. и др., 2005) при обязательной инкубации исследуемого биоматериала в стандартных условиях для индукции ПОЛ.

Вторая лабораторно-диагностическая панель – это биохимическое исследование показателей АОА в периферической крови и костном мозге крыс. Активности каталазы (КФ 1.11.1.6) определяли фотоколориметрическим методом с окислением молибдата аммония (Королюк М.А. и др., 1988). Активность пероксидазы (КФ 1.11.1.7) определяли фотоколориметрическим методом с использованием индигокармина (Попова Т. И др., 1971). Активность супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.1) определяли спектрофотометрическим методом, основанным на реакции автоокисления кверцетина (Костюк В.А. и др., 1990). Активность глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) определяли спектрофотометрически по скорости образования окисленного глутатиона (Модель М.А., 1989; Каприщенко А.И., 2002).

Определение общей неферментативной АОА проводили по измерению торможения реакций ПОЛ в модельной системе с легкоокисляемыми липидами (Клебанов Г.И., 1988; Замбржицкий О.Н. и др., 2008). Церулоплазмин определяли методом, основанным на реакции с о-фенилдиамином (Сиверина О.Б. и др., 1986; Камышников В.С., 2004). Перекисную резистентность эритроцитов определяли по степени гемолиза в присутствии 3% перекиси водорода (Покровский А. А. и др., 1964; Михайлов С.С. и др., 1999).

Учитывая трудность однозначной трактовки состояния ПОЛ и АОА по отдельным показателям, был использован математический подход по обобщению полученных результатов, основанный на применении коэффициента антиокислительной защиты (КАОЗ) предложенный Нагорневым С.Н. (Нагорнев С.Н. с соавт., 1996). В результате произведенной модификации КАОЗ были выведены формулы коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) и коэффициента антиокислительной активности (КАОА).

1. Коэффициент перекисного окисления липидов (КПОЛ):

$$КПОЛ = \frac{100 \times \sum_{n \to 4}^{1} \left[\frac{N_1}{N_{1\,ср.зн.}} + \frac{N_2}{N_{2\,ср.зн.}} \ldots + \frac{N_n}{N_{n\,ср.зн.}} \right]}{n} \qquad (1)$$

N – показатели перекисного окисления липидов (хемилюминесцетный анализ (ХЛ), диеновые коньюгаты (ДК), малоновый диальдегид (МДА), гидроперекиси (ГП)). Nср.зн – средние значения показателей ПОЛ у интактной группы крыс, n – количество показателей.

2. Коэффициент антиокислительной активности (КАОА):

$$КАОА = \frac{100 \times \sum_{n \to 7}^{1} \left[\frac{N_1}{N_{1\,ср.зн.}} + \frac{N_2}{N_{2\,ср.зн.}} \ldots + \frac{N_n}{N_{n\,ср.зн.}} \right]}{n} \qquad (2)$$

N - показатели антиокислительной активности (пероксидаза (КФ 1.11.1.7), каталаза (КФ 1.11.1.6), супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1), глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.9), общая антиокислительная активность, перекисная резистентность эритроцитов, церулоплазмин, общий глутатион). Nср.зн – средние значения показателей ПОЛ у интактной группы крыс, n – количество показателей.

Третья лабораторно-диагностическая панель – это определение количества липидов, липопротеидов периферической крови и костного мозга. Триглицериды определяли по реакции с ацетилацетоном после экстракции смесью гептана и изопропилового спирта (Меньшиков В.В., 1987). Холестерин определяли унифицированным методом Златкис-Зака по реакции с хлорным железом (Меньшиков

В.В., 1987). Фосфолипиды определяли по количеству фосфата, освободившегося при гидролизе фосфолипидов (Камышников В.С., 2000). Липопротеиды (ЛПНП, ЛПВП, ЛПОНП) определялись иммуноферментным методом (Афанасьева О.И. и др., 1995).

Четвертая лабораторно-диагностическая панель – это морфологическое изучение периферической крови. Подсчитывалось количество ретикулоцитов в мазках периферической крови, окрашенных бриллиант-крезиловой синью (Кост Е. А., 1975).

Полученные результаты статистически обрабатывали в программе MS Excel 2007 с использованием параметрического критерия СТЬЮДЕНТА и непараметрического критерия Манна-Уитни. Критерием статистической значимости различий сравниваемых средних величин считали $p \leq 0,05$ (Новиков Д.А., 2005).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние иммобилизационного стресс-воздействия на изменения перекисного окисления липидов и антиокислительную активность в системе крови зрелых и старых крыс

У интактных крыс значимых возрастных различий в изменении величины КПОЛ системы крови обнаружено не было (рисунок 4). Иммобилизационное стресс-воздействие

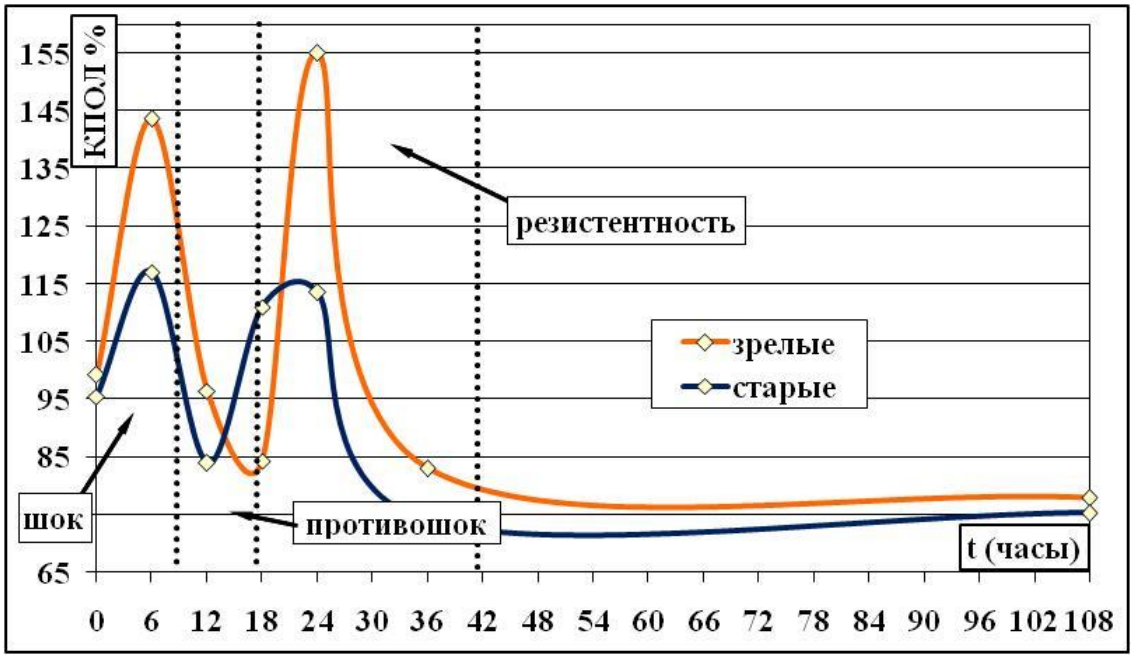

Рисунок 4 – Динамика изменения величины коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

вызывало изменения величины КПОЛ в системе крови крыс, которые соответствовали стадиям стресс-реакции (тревога (шок, противошок), резистентность). Данное заключение было сделано при сопоставлении данных диссертации с материалами публикаций ряда авторов (Меерсон Ф.З. и др., 1985; Явич М.П. и др., 1987; Гуляева Н.В., 1989).

В системе крови старых крыс изменения ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии происходили несколько раньше, на 3-6 часов, и были менее значимы по величине, чем у зрелых крыс. Величина КПОЛ у старых крыс в системе крови на протяжении всего эксперимента была меньше на 10% ($p<0,05$), по сравнению со зрелыми крысами (рисунок 4, таблица 1).

Таблица 1 – Изменение коэффициента перекисного окисления липидов в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс–воздействии

возраст крыс	контроль	иммобилизация		период после иммобилизации			
	время от начала эксперимента						
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
зрелые	99,3 ±18,4 (n=10)	143,6 ** ±31,6 (n=10)	96,5 ±19,2 (n=10)	84,3 ±9,6 (n=10)	155,0 ** ±30,8 (n=10)	83,0 ±14,9 (n=10)	77,8 ±10,8 (n=10)
старые	95,5 ±11,5 (n=10)	117,0* ** ±16,5 (n=10)	84,0 ±29,1 (n=10)	111,0** ±11,4 (n=10)	113,6* ±20,4 (n=10)	74,0 ** ± 9,6 (n=10)	75,3 ** ± 10,3 (n=10)

*Примечание: * $p<0,05$ при сравнении двух возрастов;*
*** $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).*

С увеличением возраста в ряде органов и систем организма наблюдались морфологические изменения, сопровождающиеся увеличением доли соединительной ткани (Богомолец А.А., 1940). В костном мозге старых крыс увеличивалось количество фиброзной стромы и адипоцитов (Анисимов В.Н., 2008; Ястребов А.П. и др., 2005), а также уменьшалась эффективность неферментативной антиокислительной системы (Carvalho C. et al., 2010; Helmy M.M., 2012). Все это в совокупности, могло быть причиной более ранней активации ПОЛ в системе крови старых крыс при стресс-воздействии, смещение графика динамики КПОЛ влево по горизонтали, ось абсцисс (рисунок 4).

Миелокариоциты крыс активнее по сравнению с периферической кровью реагировали на иммобилизационное стресс-воздействие. В течение 6 часов иммобилизационного стресс-воздействия величина КПОЛ в миелокариоцитах у зрелых крыс оказалась больше на 90% ($p<0,05$), у старых крыс – на 70% ($p<0,05$), по сравнению с КПОЛ периферической крови (таблица 2). Это возможно связано с наличием в костном мозге жировых клеток, количество которых при стресс-воздействии в результате апоптоза становилось меньше (Юшков Б.Г. и др., 2004; Chen Y. et al., 2013; Iyer S. et al., 2013). Продукты распада адипоцитов на фоне увеличения объема сосудистой ткани являлись субстратом для свободно-радикальных реакций, что в итоге могло приводить к активации ПОЛ в костном мозге и системе крови.

Таблица 2 – Изменение коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в периферической крови и миелокариоцитах зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс–воздействии

возраст крыс	контроль	иммобилизация		период после иммобилизации			
	время от начала эксперимента						
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
КПОЛ в миелокариоцитах							
зрелые	103,0 ± 24,5	214,1 * ± 50,7	120,9 ± 37,9	66,2 * ± 6,9	169,2 ± 39,8	94,9 ± 28,2	49,9 * ± 7,9
старые	96,0 ± 17,0	166,0 * ± 38,6	66,3 ± 29,4	77,8 * ± 2,1	106,0 ± 24,6	68,3 * ± 14,8	72,7 ± 10,1
КПОЛ в периферической крови							
зрелые	99,5 ±9,0	112,6 ±10,6	97,3 ±16,7	101,7 ±5,4	127,0 ±11,2	102,6 ±10,1	96,6 ±13,6
старые	95,3 ±6,3	96,5 2,3	76,9 ±20,3	108,7 ±6,2	103,7 ±13,0	87,1 ± 4,6	81,7 ± 4,8

*Примечание: *p<0,05 при сравнении КПОЛ периферич. крови и КПОЛ миелокариоцитов.*

По мнению ряда авторов, межклеточная среда костного мозга могла влиять на биохимические и физиологические изменения в системе крови, происходящие, при иммобилизационном и других видах стресс-воздействия (Юшков Б.Г. и др., 2004; Chen S. et al., 2014; Sahoo S. et al., 2014). Симпатический отдел вегетативной нервной системы организма в ответ на стресс-воздействие увеличивал количество катехоламинов в межклеточной среде костного мозга (Климин В.Г. и др., 1997). Основной мишенью действия катехоламинов при активации процессов ПОЛ могли служить адипоциты костного мозга. С возрастом наблюдалось увеличение количества жировой ткани в костном мозге, что могло являться причиной более ранней активации ПОЛ у старых крыс при стресс-воздействии (Cao J.J., 2011; Tuljapurkar S.R. et al., 2011).

При изучении коэффициента антиокислительной активности (КАОА) в системе крови крыс было выяснено, что иммобилизационное стресс-воздействие вызывало фазные изменения КАОА, соответствующие стадиями стресс-реакции (тревога (шок, противошок), резистентность) (рисунок 5). Возрастных различий изменения величины КАОА в системе крови интактных крыс и при иммобилизационном стресс-воздействии обнаружено не было (таблица 3). Для более подробного изучения АОА в системе крови крыс был проведен анализ ферментативной и неферментативной АОС. На ранних этапах стресса, в стадии тревоги в большей степени была задействована неферментативная АОС, а в дальнейшем, начиная, со стадии резистентности, на первый план выходила ферментативная АОЗ. Это происходило, начиная с 12 часа после окончания иммобилизационного стресс-воздействия. В этот период

происходила активация долговременных механизмов адаптации, связанных с началом синтеза защитных белков - каталаза, супероксиддисмутаза и т.д. (Меерсон Ф.З. и др., 1987).

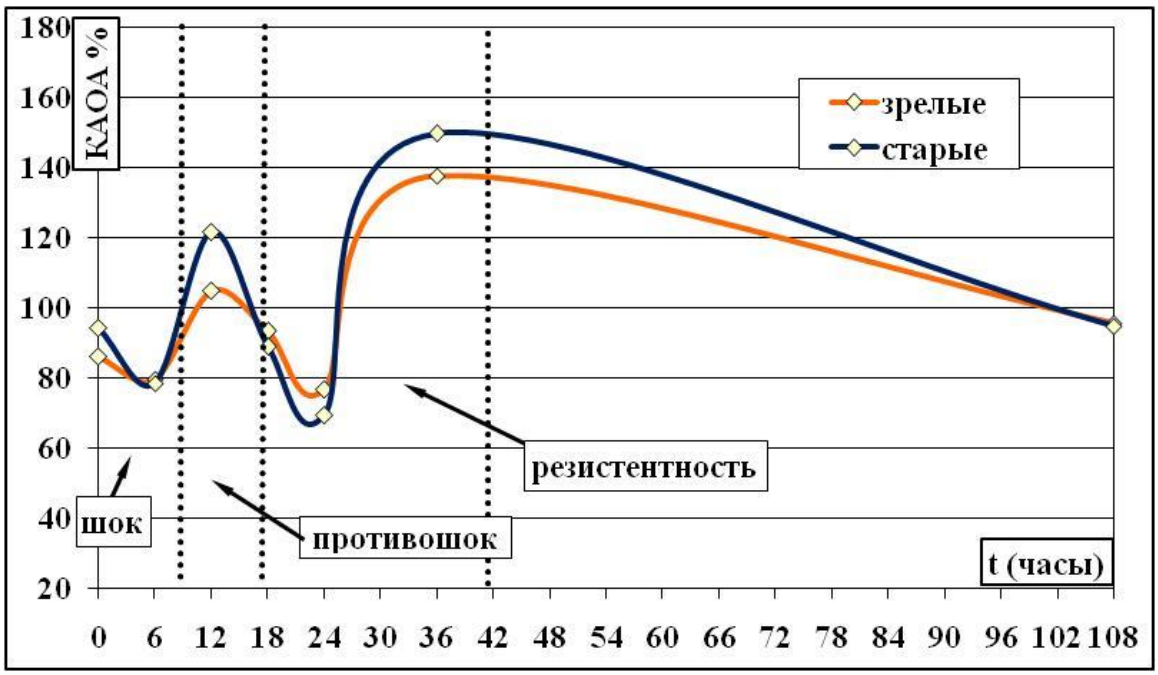

Рисунок 5 – Динамика изменения величины коэффициента антиокислительной активности в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

В литературе отмечено увеличение количества ретикулоцитов крови в ответ на иммобилизационное стресс-воздействие (Дыгай А.М., 2004; Sawadogo D. et al., 2014). Увеличение количества ретикулоцитов в периферической крови происходило в результате их выхода из костного мозга, что было связано с увеличением доли сосудистой ткани и уменьшением количества жировой ткани освобождающей «резервную» территорию, необходимую для гиперплазии миелокариоцитов при кроветворении (Климин В.Г. и др., 1997; Юшков Б.Г. и др., 2004).

Таблица 3 – Изменение коэффициента антиокислительной активности в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс–воздействии

возраст крыс	контроль	иммобилизация		период после иммобилизации			
	время от начала эксперимента						
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
зрелые	86,0 ± 9,0 (n=10)	79,6 ± 14,9 (n=10)	104,6 ± 18,9 (n=10)	93,2 ± 8,3 (n=10)	76,6 ± 21,3 (n=10)	137,6 * ± 19,1 (n=10)	95,6 ± 17,7 (n=10)
старые	94,1 ± 6,1 (n=10)	78,4 ± 11,6 (n=10)	121,6 ± 32,7 (n=10)	88,9 ± 16,4 (n=10)	69,1 * ± 11,7 (n=10)	149,6 * ± 23,9 (n=10)	94,6 ± 28,8 (n=10)

*Примечание: * $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой (одного возраста).*

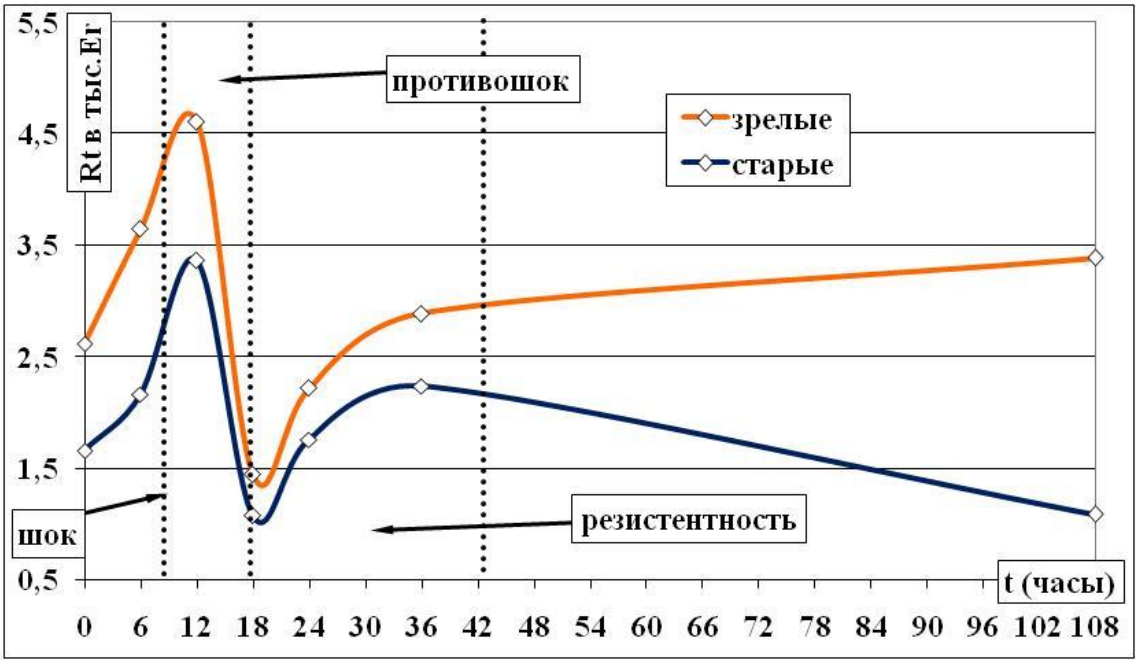

Рисунок 6 – Динамика изменения количества ретикулоцитов (Rt) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

При изучении количества ретикулоцитов в крови интактных зрелых и старых крыс достоверных возрастных различий обнаружено не было (рисунок 6). Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало фазные изменения количества ретикулоцитов в периферической крови, которые соответствовали стадиям стресс-реакции (тревога (шок, противошок), резистентность). Это могло быть связано как с миграцией ретикулоцитов из костного мозга в периферическую кровь на начальных стадиях стресс-реакции, так и в дальнейшем – с активацией пролиферации эритроцитарного ростка костного мозга.

Таблица 4 – Изменение количества ретикулоцитов (на тыс. эритроцитов-Er) в крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс–воздействии

возраст крыс	контроль	иммобилизация		период после иммобилизации			
	время от начала эксперимента						
	0 часов	6 часов	12 часов	18 часов	24 часа	36 часов	108 часов
зрелые	26,2 ± 7,8 (n=10)	36,5 ± 10,3 (n=10)	46,1 ± 17,5 (n=10)	14,4 ** ± 2,7 (n=10)	22,1 ± 4,1 (n=10)	28,8 ± 11,5 (n=10)	33,8 * ± 9,6 (n=10)
старые	16,6 ± 6,1 (n=10)	21,6* ± 0,6 (n=10)	36,1** ± 7,9 (n=10)	10,7 * ± 0,9 (n=10)	17,5 ± 3,1 (n=10)	22,3 ± 9,1 (n=10)	10,8 ± 4,5 (n=10)

*Примечание: * $p<0,05$ при сравнении двух возрастов;*
*** $p<0,05$ при сравнении с контрольной группой*

При сравнении количества ретикулоцитов периферической крови между зрелыми и старыми крысами в условиях иммобилизационного стресс-воздействия было установлено, что на протяжении всего эксперимента количество ретикулоцитов у старых крыс было меньше на 30% ($p<0,05$) и это уменьшение оставалось постоянным (таблица 4). Данный факт мог

свидетельствовать о происходящем с возрастом уменьшении пролиферативной активности или количества стволовых клеток костного мозга.

При сопоставлении количества ретикулоцитов периферической крови с величиной КПОЛ миелокариоцитов, была обнаружена прямая корреляционная зависимость с коэффициентом средней силы 0,73 ($p<0,05$). Изменения количества ретикулоцитов при стресс-воздействии происходили не только благодаря увеличению доли сосудистой ткани и уменьшению количества жировой ткани в костном мозге крыс (Климин В.Г. и др., 1997; Юшков Б.Г. и др., 2004), но и благодаря активации процессов ПОЛ, которые, по мнению ряда авторов, могут влиять на пролиферацию (Чеснокова Н.П. и др., 2008; Чекман И.С. и др., 2014; Hashmi M.Z. et al., 2014). Таким образом, возрастзависимое уменьшение количества ретикулоцитов в периферической крови, может быть связано со снижением интенсивности процессов ПОЛ в костном мозге старых крыс.

Влияние адреналина и ацетилхолина на изменения процессов перекисного окисления липидов в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Изучение действия адреналина на активность процессов ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии продемонстрировало способность адреналина ускорять изменения интенсивности процессов ПОЛ системы крови крыс. Инъекция адреналина вызывала смещение графика динамики КПОЛ системы крови крыс влево по оси абсцисс, увеличение интенсивности процессов ПОЛ наступало на 6 часов раньше (рисунок 7). Активация процессов ПОЛ в костном мозге при иммобилизационном стресс-воздействии и ускорение этой активации адреналином могли происходить в результате апоптоза адипоцитов или катаболического распада триглицеридов, вызванные действием стресса или адреналина (Климин В.Г. и др., 1997; Терешина Е.В., 2007; Pierroz D.D., 2004; Pazdro P. et al., 2013).

Введение ацетилхолина вызывало замедление изменений динамики КПОЛ в системе крови крыс. Кривая изменения КПОЛ при стрессе под воздействием ацетилхолина растягивалась и смещалась вправо по оси абсцисс (рисунок 8). Одной из причин такого действия ацетилхолина могла быть его способность депонироваться в эритроцитах и клетках костного мозга, и постепенно под действием экстремального фактора освобождаться из них. Ацетилхолин – нейромедиатор, инактивирующийся ферментом холинэстеразой (КФ 3.1.1.7), но по некоторым данным свободный ацетилхолин может накапливаться в эритроцитах и клетках костного мозга (Кассиль Г.Н. 1983; Лупинская З.А. и др., 2008; Забродский П.Ф.,

2012; Holland W.C. et al., 1952; Carvalho A.A. et al., 2004; Owusu B.Y. et al., 2013).

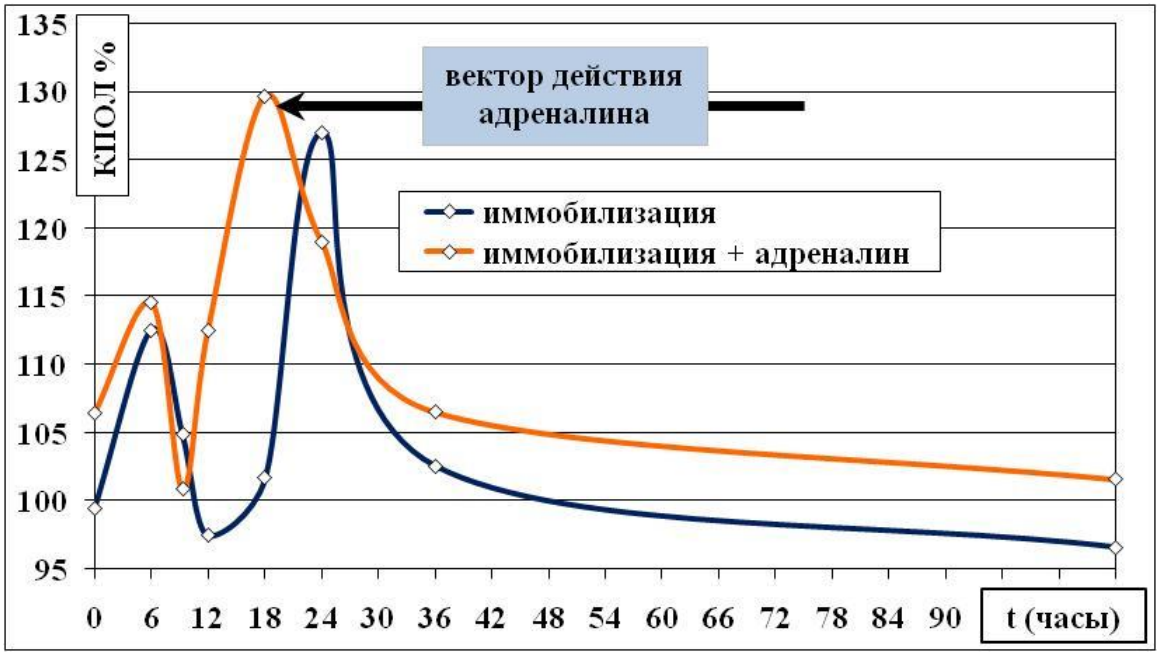

Рисунок 7 – Влияние адреналина на изменение динамики коэффициента перекисного окисления липидов (КПОЛ) в системе крови зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

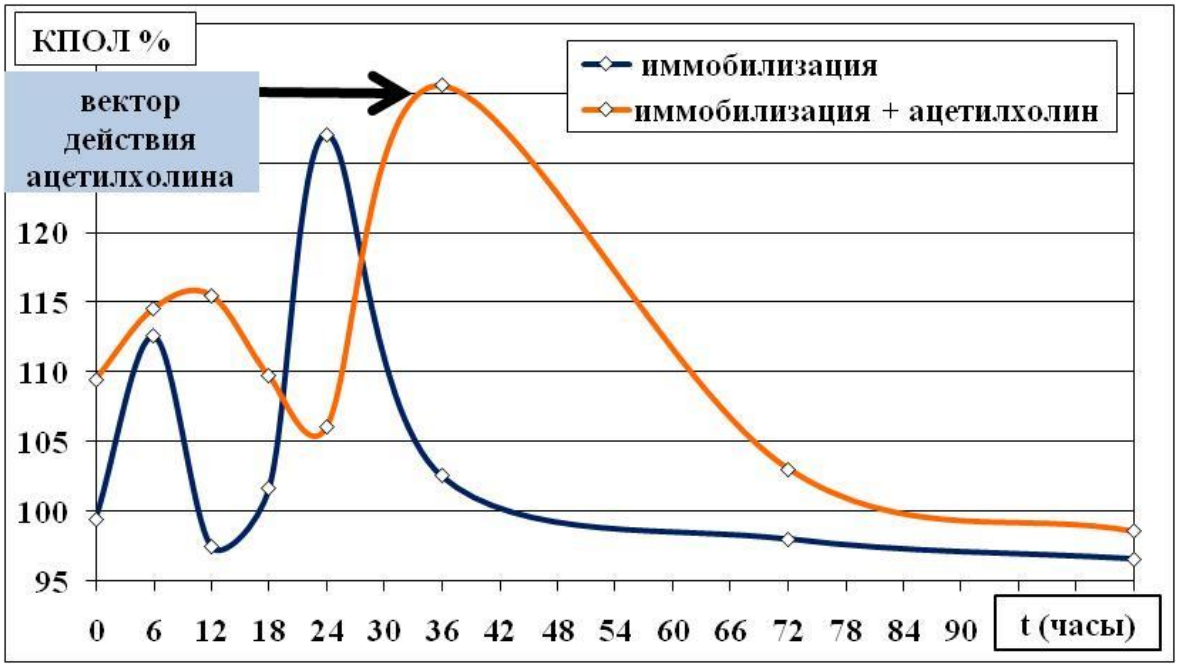

Рисунок 8 – Влияние ацетилхолина на изменение динамики коэффициента перекисного окисления липидов в системе крови зрелых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Таким образом, при иммобилизационном стресс-воздействии адреналин ускорял изменения процессов ПОЛ в системе крови крыс, ацетилхолин – замедлял.

При изучении возрастных различий в изменении интенсивности процессов ПОЛ адреналином и ацетилхолином было выяснено, что у старых крыс происходило снижение

эффективности действия этих нейромедиаторов. Во всех изученных группах (контроль, иммобилизация и воздействие адреналином и ацетилхолином) отмечалось снижение величины КПОЛ в системе крови старых крыс на 10-20% по сравнению со зрелыми крысами.

С целью определить, действуют адреналин и ацетилхолин непосредственно на миелокариоциты или обладают опосредованным влиянием через другие фракции костного мозга был проведен эксперимент in vitro с инкубацией миелокариоцитов зрелых и старых крыс нейромедиаторами. Адреналин вызывал активацию процессов ПОЛ в миелокариоцитах как зрелых, так и старых крыс (рисунок 10). У старых крыс реакция миелокариоцитов на действие адреналина была более выражена, значение КПОЛ в этих условиях увеличилось на 48% ($p<0,05$), по сравнению с миелокариоцитами зрелых крыс. Таким образом, в миелокариоцитах старых крыс происходило усиление влияния симпатической нервной системы (или адреналина) на активацию процессов ПОЛ.

Способность адреналина усиливать свободно-радикальные процессы в миелокариоцитах крыс могла быть связана с двумя механизмами. Во-первых, увеличение интенсивности ПОЛ является результатом катаболического действия адреналина. В клетке адреналин активирует ряд катаболических ферментов - фосфорилазы, фосфолипазы (Атауллаханов Ф.И. 2000; Зинченко В.П. и др. 2003; Кленов Р.О. 2009; Dasu M.R. et al., 2014; Fernandes G.W. et al., 2014), продукты их деятельности являются субстратом для активации процессов ПОЛ.

Во-вторых, увеличение свечения хемилюминесценции инкубируемых миелокариоцитов могло быть связано с биолюминесценцией клеток, которая явилась следствием реакций фосфорилирования в системе внутриклеточных месенджеров при действии нейромедиаторов на рецепторный аппарат клетки (Журавлев А.И., 1991; Владимиров Ю.А. и др., 2009).

Введение ацетилхолина в инкубационную среду с миелокариоцитами также вызывало активацию липопероксидации. Максимальная активация хемилюминесценции миелокариоцитов зрелых и старых крыс происходила через 25 секунд после введения ацетилхолина, что на 10 секунд позже по сравнению с адреналином (рисунок 11). У старых крыс реакция миелокариоцитов на ацетилхолин была менее выраженная, величина КПОЛ - меньше на 43% ($p<0,05$), чем в миелокариоцитах зрелых. Таким образом, с возрастом в миелокариоцитах старых крыс происходило уменьшение влияния ацетилхолина или парасимпатического отдела вегетативной нервной системы на активацию процессов ПОЛ.

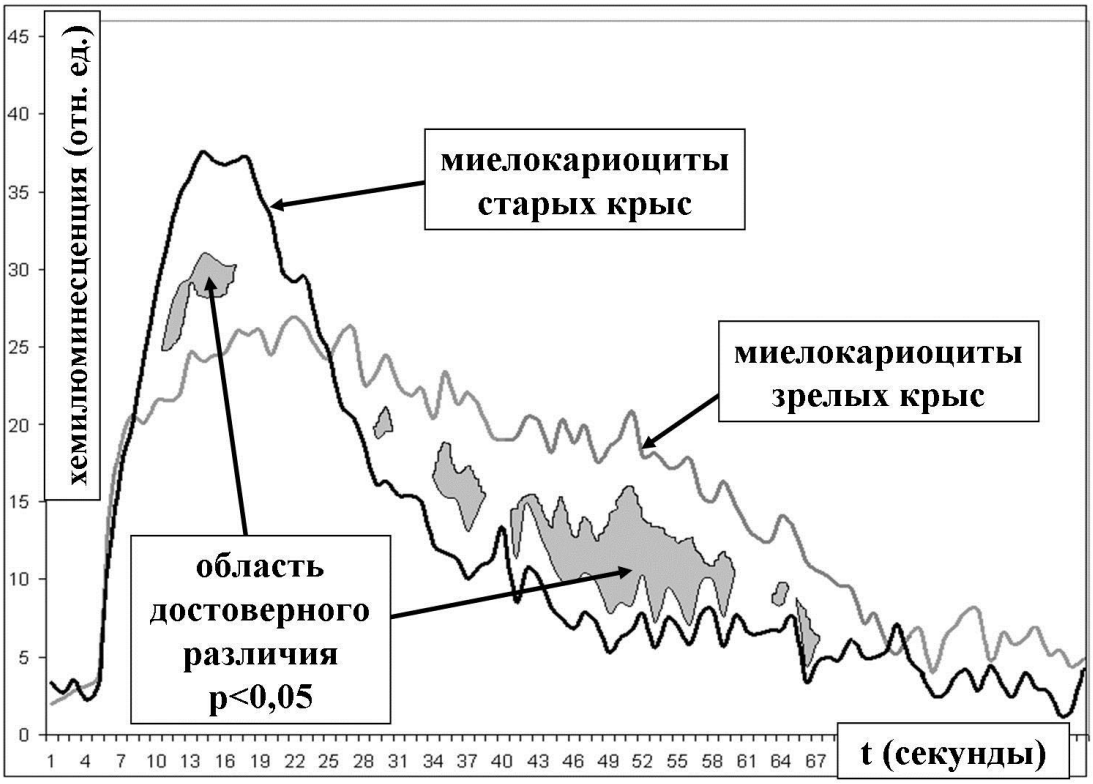

Рисунок 9 – Динамика хемилюминесценции в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при инкубации с адреналином in vitro

Рисунок 10 – Динамика хемилюминесценции в миелокариоцитах зрелых и старых крыс при инкубации с ацетилхолином in vitro

Полученные данные были обобщены в схему, демонстрирующую различное влияние вегетативной нервной системы на степень активации липопероксидации миелокариоцитов животных старого и зрелого возраста (рисунок 12). С возрастом в системе крови старых крыс

происходило уменьшение влияния парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (ацетилхолин) и усиливалось доля влияния симпатического отдела (адреналин) на активацию интенсивности процессов ПОЛ при иммобилизационном стресс-воздействии, что могло быть одной из причин более ранней активации перекисного окисления при стрессе в старом возрасте.

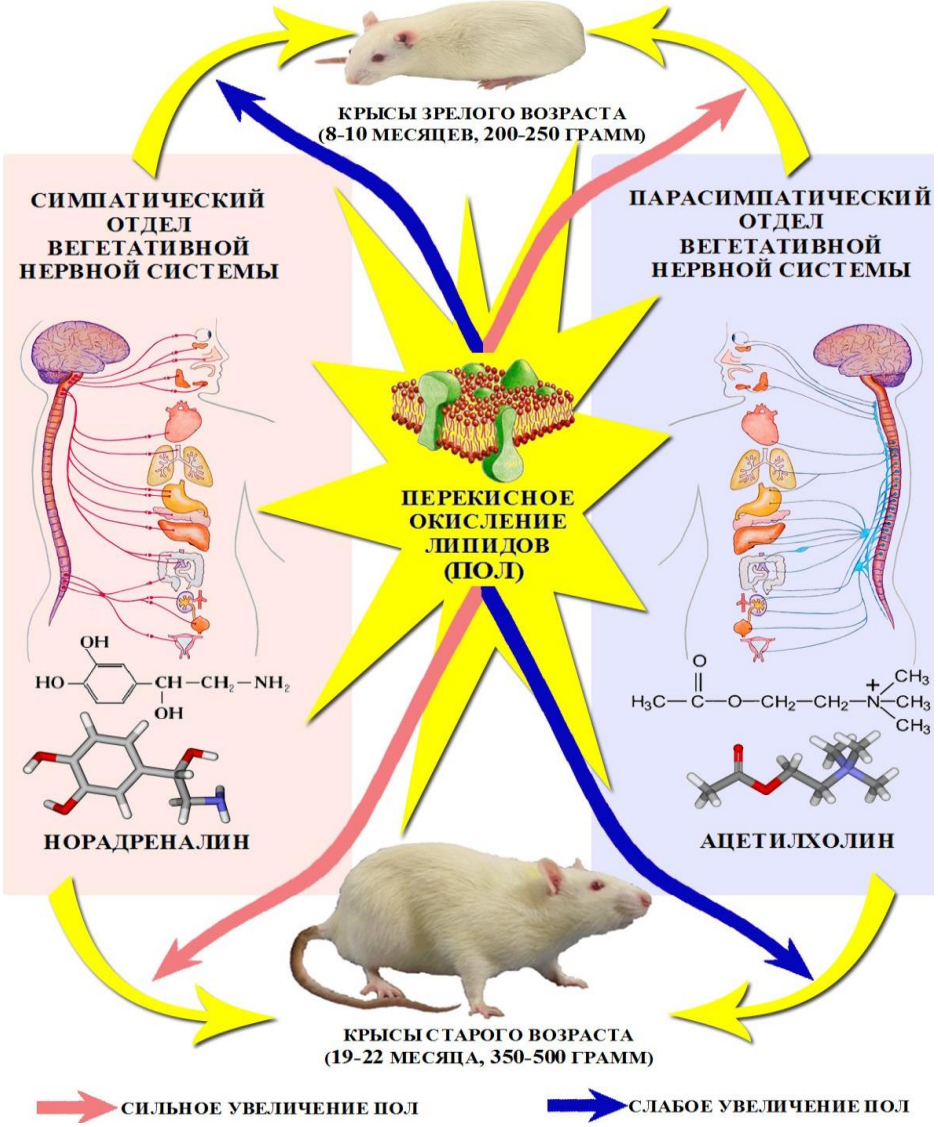

Рисунок 11 – Возрастные особенности участия симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы в изменении перекисного окисления липидов системы крови крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

Влияние сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов, антиокислительную активность и липопротеидный состав в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

В качестве протекторного средства защищающего от действия процессов ПОЛ, активированных иммобилизационным стресс-воздействием, было использовано сочетание L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.). Никотиновая кислота, участвуя в

метаболизме L-триптофана, индуцирует его метаболизм по серотониновому пути, что может усиливать антиоксидантные свойства L-триптофана.

Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало уменьшение величины КАОА в системе крови крыс, у зрелых - КАОА при этом уменьшился на 16% ($p>0,05$), у старых - на 19 % ($p<0,05$), по сравнению с интактными крысами (таблица 5). В системе крови зрелых крыс после введения Трп+Н.к. величина КАОА возрастала на 13%, у старых - на 14,5% ($p<0,05$). Введение крысам Трп+Н.к. на фоне иммобилизационного стресс-воздействия приводило к увеличению в системе крови величины КАОА, у зрелых крыс КАОА увеличился на 67% ($p<0,05$), у старых – на 44% ($p<0,05$). Полученные данные демонстрируют антиоксидантное действие Трп+Н.к. на систему крови крыс при стресс-воздействии. Величина КАОА в системе крови старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии и в условиях действия Трп+Н.к. была меньше на 17% ($p<0,05$), чем у зрелых крыс (таблица 5). Возможно, с увеличением возраста в организме крыс происходило ингибирование метаболизма L–триптофана по серотониновому пути, приводящее к уменьшению количества производных триптофана с антиокислительными свойствами, что дополнительно усугублялось действием стресс-фактора.

Таблица 5 – Влияние сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.) на коэффициент антиокислительной активности (КАОА) в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

группы крыс	интактные	иммобилизационное стресс-воздействие	Трп+Н.к.	Трп+Н.к и иммобилизационное стресс-воздействие
зрелые (КАОА)	93±10 *(1,7)*	78,5±9,5 *(1,3,4)*	105±14,5 *(3)*	131±15 *(4,7,8)*
старые (КАОА)	93,5±9 *(2)*	75,5±8,5 *(2,5,6)*	107±19,5 *(5)*	108,5±11,5 *(6,8)*

Примечание: одинаковые цифры в скобках – пары достоверно различающихся показателей между группами ($p<0,05$).

При изучении изменения величины КПОЛ в системе крови крыс были получены данные, подтверждающие антиокислительное действие сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты. Иммобилизационное стресс-воздействие увеличивало величину КПОЛ в системе крови крыс. Инъекция Трп+Н.к. на фоне иммобилизационного стресс-воздействия приводила к снижению величины КПОЛ до уровня интактных крыс. В системе крови зрелых крыс величина КПОЛ после введения комплекса уменьшилась на 27% ($p<0,05$), у старых крыс - на 11% ($p>0,05$), (таблица 6).

Из возрастных различий вытекало следующее: у старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии наблюдалось уменьшение антиокислительной эффективности этого

комплекса, что может быть связано с возраст-зависимым нарушением в работе ферментов, контролирующих метаболизм L-триптофана по серотониновому пути.

Таблица 6 – Влияние сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.) на коэффициент антиокислительной активности (КАОА) в системе крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

группы крыс	интактные	иммобилизационное стресс-воздействие	Трп+Н.к.	Трп+Н.к и иммобилизационное стресс-воздействие
зрелые (КАОА)	104±*15(1)*	136,5±13 *(1,2,3)*	99,5±13,5 *(2)*	100±20,5 *(3)*
старые (КАОА)	95±22,5	106,5±11,5 *(4)*	85,5±10,5 *(4)*	95±13,5

Примечание: одинаковые цифры в скобках – пары достоверно различающихся показателей между группами (p<0,05).

Были проведены дополнительные исследования по изучению влияния сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты на систему ПОЛ/АОА в печени и головном мозге крыс, которые также показали антиоксидантное действие Трп+Н.к..

При изучении липопротеидов периферической крови крыс было установлено, что помимо антиокислительного действия, L-триптофан в сочетании с никотиновой кислотой обладал гиполипидемическим действием. В качестве интегрального показателя липидной составляющей периферической крови крыс был выбран липопротеидный коэффициент (ЛК). Иммобилизационное стресс-воздействие вызывало увеличение ЛК, при этом у зрелых крыс произошло увеличение на 16% (p>0,05), у старых крыс - на 57% (p<0,05), по сравнению с интактными крысами (таблица 7).

Таблица 7 – Влияние сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты (Трп+Н.к.) на липопротеидный коэффициент (ЛК) в периферической крови зрелых и старых крыс при иммобилизационном стресс-воздействии

группы крыс	интактные	иммобилизационное стресс-воздействие	Трп+Н.к.	Трп+Н.к и иммобилизационное стресс-воздействие
зрелые (ЛК)	1,22±0,10 *(1)*	1,41±0,20 *(3)*	1,07±0,20 *(5)*	1,59±0,35
старые (ЛК)	1,65±0,20 *(1,2)*	2,59±0,32 *(2,3,4)*	2,02±0,44 *(5)*	1,72±0,52 *(4)*

Примечание: одинаковые цифры в скобках – пары достоверно различающихся показателей между группами (p<0,05).

Введение Трп+Н.к. на фоне иммобилизационного стресс-воздействия вызывало уменьшение величины липопротеидного коэффициента в периферической крови старых крыс на 34% (p<0,05), возвращая его к нормальным показателям; у зрелых крыс аналогичных изменений не обнаружено. В данном случае введение сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты, помимо антиоксидантного действия, продемонстрировало гиполипидемические геропрофилактические качества неантиоксидантного генеза.

ВЫВОДЫ

1. При иммобилизационном стресс–воздействии процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) в системе крови крыс изменяются в зависимости от стадий стресс-реакции, при этом у старых крыс изменения активности процессов ПОЛ происходят на 3-6 часов раньше, чем у зрелых, что, возможно, связано с возраст-зависимым уменьшением эффективности неферментативной антиокислительной системы.

2. В эксперименте при стрессе нейромедиаторы вегетативной нервной системы оказывают влияние на изменение интенсивности процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ); адреналин при иммобилизационном стресс-воздействии в системе крови крыс способствует быстрому и более значимому увеличению интенсивности процессов ПОЛ, а ацетилхолин - более продолжительному, но менее значимому изменению ПОЛ.

3. С увеличением возраста у крыс наблюдается ослабление влияния парасимпатического отдела вегетативной нервной системы (ацетилхолин) и усиление симпатического отдела вегетативной нервной системы (адреналин) на изменения интенсивности процессов перекисного окисления липидов, что способствует более ранней активации этих процессов при иммобилизационном стресс–воздействии в системе крови старых крыс и снижению пролиферативного потенциала костного мозга при старении.

4. Воздействие сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты в условиях иммобилизационного стресс-воздействия вызывает ингибирование процессов перекисного окисления липидов в системе крови и органах крыс, проявляя антиоксидантные свойства; при этом с увеличением возраста у старых крыс происходит уменьшение антиокислительной эффективности сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты.

5. Иммобилизационное стресс-воздействие вызывает негативные гиперлипидемические изменения в периферической крови крыс старого возраста, но в условиях воздействия сочетания L-триптофана и никотиновой кислоты наблюдается нормализация липидного и липопротеидного состава крови, демонстрируя геропрофилактические, гиполипидемические качества неантиоксидантного генеза.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Пациентам, которым показан длительный постельный режим (лечение травматических повреждений, инсульты, инфаркты) необходимо исследование уровня процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиокислительной активности (АОА) с целью выяснения их

про- и антиоксидантного статуса.

2. При определения в клинической практике параметров перекисного окисления липидов и антиокислительной активности рекомендуется использовать расчетные интегральные коэффициенты перекисного окисления липидов (КПОЛ) и антиокислительной активности (КАОА), позволяющие более объективно подойти к оценке про- и антиоксидантного статуса у пациентов.

3. Пациентам с длительным постельным режимом, имеющим показания к коррекции изменений величины КПОЛ и КАОА, рекомендуется принимать L-триптофан в сочетании с никотиновой кислотой в общепринятых суточных дозировках.

4. Рекомендуется использовать в педагогической практике на кафедрах с биологическим и медицинским профилем при изучении следующих тем: перекисное окисление липидов, стресс (общий адаптационный синдром) Г.Селье, вегетативная нервная система.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в изданиях, рекомендованных ВАК РФ

1. **Щербаков Д.Л.** Влияние сочетания триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов в системе крови у крыс разного возраста в норме и при ускоренном старении / **Д.Л. Щербаков**, В.Н. Мещанинов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2007. – Т.18, № 4. – С. 82–86. (импакт-фактор РИНЦ - 0,126)

2. **Щербаков Д.Л.** Особенности влияния адреналина на перекисное окисление липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс in vitro / **Д.Л. Щербаков**, В.В. Емельянов, В.Н. Мещанинов // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2013. – Т. 18, № 4. – С. 102–105. (импакт-фактор РИНЦ - 0,126)

3. **Щербаков Д.Л.** Влияние олигопептида на изменения интенсивности перекисного окисления липидов и антиокислительной активности при иммобилизационном стресс-воздействии в периферической крови крыс разного возраста / **Д.Л. Щербаков**, В.Н. Мещанинов, С.В. Жарков // Вестник Уральской медицинской академической науки. – 2014. – Т. 51, № 5. – С. 110–115. (импакт-фактор РИНЦ 0,126)

4. **Щербаков Д.Л.** Антиоксидантное действие триптофана и никотиновой кислоты в головном мозгу крыс разного возраста при иммобилизационном стресс-воздействии / **Д.Л. Щербаков**, В.В. Емельянов, В.Н. Мещанинов // Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27, № 4. – С. 730–736. (импакт-фактор РИНЦ 0,468)

Публикации в других изданиях

5. **Щербаков Д.Л.** Возрастные особенности влияния нейрометаболитов в условиях иммобилизационного стресса на липопероксидацию и регенерацию костного мозга у крыс / **Д.Л. Щербаков**, В.А. Лукаш, А.А. Нифонтова, А.В. Виноградов // Актуальные вопросы

современной медицинской науки и здравоохранения: материалы 55 науч. конф. студентов и молодых ученых. – Екатеринбург, 2000. – С. 43–44.

6. **Щербаков Д.Л.** Влияние нейрометаболитов на содержание фосфолипидов у крыс разного возраста в норме и при иммобилизационном стрессе / **Д.Л. Щербаков**, В.А. Лукаш, А.А. Нифонтова, А.С. Пирогов // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: материалы 55 науч. конф. студентов и молодых ученых. – Екатеринбург, 2000. – С. 45–46.

7. Лукаш В.А. Криорезистентность эритроцитов как одна из характеристик перекисного окисления липидов крови у крыс разного возраста при иммобилизационном стрессе и нейрометаболическом воздействии / В.А. Лукаш, **Д.Л. Щербаков**, А.С. Овечкин // Актуальные вопросы современной медицинской науки и здравоохранения: материалы 55 науч. конф. студентов и молодых ученых. – Екатеринбург, 2000. – С. 49.

8. Емельянов В.В. Возрастные особенности процессов перекисного окисления липидов и антиокислительной активности в головном мозге при стрессе / В.В. Емельянов, **Д.Л. Щербаков,** В.Н. Мещанинов, В.К. Кротов // Геронтология и гериатрия. Мед. обслуживание ветеранов войн: материалы межобл. науч.-практ. конф. – Екатеринбург, 2000. – С.44-45.

9. **Щербаков Д.Л.** Участие нейрометаболитов в возрастной динамике перекисного окисления липидов при стрессе / **Д.Л. Щербаков**, В.А. Лукаш А.А. Нифонтова В.В. Емельянов // Геронтология и гериатрия. Мед. обслуживание ветеранов войн: материалы межобл. науч.-практ. конф. – Екатеринбург, 2000. – С.129–130.

10. **Щербаков Д.Л.** Изменения липидного обмена у крыс разного возраста при стрессе и их коррекция L–триптофаном и никотиновой кислотой / **Д.Л. Щербаков**, В.В. Емельянов, В.Н. Мещанинов, А.П. Ястребов // Геронтология и гериатрия. – 2001. – № 1. – С.236–238.

11. Гаврилов И.В. Роль экспериментальных исследований в геронтологии / И.В. Гаврилов, О.М. Бубенщиков, В.Н. Мещанинов, **Д.Л. Щербаков**, В.А. Лукаш, А.П. Ястребов // Геронтология, гериатрия, послевоенная медицина: материалы межобл. науч.-практ. конф.– Екатеринбург, 2002. – С.17–18.

12. **Щербаков Д.Л.** Возрастные особенности влияния адреналина на клетки красного костного мозга крыс / **Д.Л. Щербаков**, А.П. Ястребов // Госпитальный вестник. – 2006. – № 4. – С. 15–19.

13. **Щербаков Д.Л.** Влияние даларгина на процессы перекисного окисления липидов и антиокислительную активность в клетках красного костного мозга у крыс разного возраста в норме и при ускоренном старении / **Д.Л. Щербаков**, А.П. Ястребов // Актуальные вопросы тканевой и клеточной трансплантологии: мат. III Всерос. симпоз. с междунар. участием. – М., 2007. – С.48.

14. **Щербаков Д.Л.** Возрастные особенности влияния триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов и антиокислительную активность клеток и плазмы крови при стресс-воздействии / **Д.Л. Щербаков** // Актуальные вопросы современной биохимии: мат.

Всерос. науч.-практ. конф. биохимиков и специалистов по лаб. медицине, посв. 20-летию Кировской ГМА. – Киров, 2007. – С.171–172.

15. **Щербаков Д.Л.** Возрастные особенности влияния сочетания триптофана и никотиновой кислоты на перекисное окисление липидов в головном мозге / **Д.Л. Щербаков**, И.В. Гаврилов // Актуальные проблемы геронтологии и гериатрии: мат. науч.-практ. конф. и школы с междунар. участием, памяти акад. В.В. Фролькиса. – Киев, 2013. – С.17.

16. **Щербаков Д.Л.** Влияние нейрометаболитов вегетативной нервной системы на перекисное окисление липидов в периферической крови крыс разного возраста при иммобилизационном стрессе / **Д.Л. Щербаков**, И.В. Гаврилов // Актуальные вопросы медицинской биохимии и клинической лабораторной диагностики: мат. Рос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, памяти акад. Д.М. Зубаирова. – Казань, 2013. – С.192-196.

17. **Щербаков Д.Л.** Особенности влияния адреналина на перекисное окисление липидов в миелокариоцитах зрелых и старых крыс in vitro / **Д.Л. Щербаков**, В.В. Емельянов, В.Н. Мещанинов // Клеточные технологии – практическому здравоохранению: материалы II межрегион. науч.-практ. конф. – Екатеринбург, 2013. – С.69–76.

18. Meshchaninov V. Influence of the oligopeptide inductor of genome on lipid peroxidation and antioxidant activity in rats bone marrow at accelerated aging / V. Meshchaninov, **D Sherbakov** // Genetics of aging and longevity: Abstracts of reports of 3nd internat. conf. – Sochi, 2014. – P.87.

19. Tkachenko E. Age-dependent correction erythron by potential activator of genome / E. Tkachenko, **D. Sherbakov**, I. Gavrilov, V. Meshchaninov // Genetics of aging and longevity: Abstracts of reports of 3nd internat. conf. – Sochi, 2014. – P.105.

20. **Щербаков Д.Л.** Влияние нейромедиаторов вегетативной нервной системы на перекисное окисление липидов в миелокариоцитах крыс разного возраста in vitro / **Д.Л. Щербаков,** В.Н. Мещанинов // IV съезд физиологов СНГ: научные труды. – Сочи, 2014. – С. 158.

Список сокращений

АОА – антиокислительная активность

КАОА – коэффициент антиокислительной активности

КПОЛ – коэффициент перекисного окисления липидов

ЛК – липопротеидный коэффициент

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности

ЛПОНП – липопротеиды очень низкой плотности

ОХ – общий холестерин

ПОЛ – перекисное окисление липидов

Трп+Н.к. – сочетание L-триптофана и никотиновой кислоты

Щербаков Денис Леонидович

ВЛИЯНИЕ НЕЙРОМЕДИАТОРОВ НА ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И АНТИОКИСЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ПРИ ИММОБИЛИЗАЦИОННОМ СТРЕСС-ВОЗДЕЙСТВИИ У КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА

03.03.01 – физиология

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата биологических наук