

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»  
(ФГБОУ ВО АГУ)  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ  
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«АСТРАХАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО Астраханский ГМУ Минздрава России)

На правах рукописи

**РОЖКОВА ИРИНА СЕМЕНОВНА**

**ХРОНОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ОНТОГЕНЕЗА В  
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО СТРЕССА И  
ЕГО КОРРЕКЦИИ КОМПЛЕКСОМ АНТИОКСИДАНТОВ**

1.5.5 – Физиология человека и животных

Диссертация на соискание ученой степени  
доктора биологических наук

Научный консультант:

Заслуженный работник Высшей школы РФ,

доктор биологических наук,

профессор Теплый Д.Л.

**Астрахань – 2022**

## ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>Список обозначений и условных сокращений</b>	4
<b>Введение</b>	5
<b>Глава 1. Анализ формирования околочасовых ритмов и ответной реакции организма человека и животных на фоне стрессогенных воздействий (обзор литературы)</b>	16
1.1 Околочасовые клеточные ритмы – как фактор адаптации к изменяющимся условиям внешней среды	16
1.2 Некоторые аспекты физиологических изменений в органах иммунной системы	30
1.3 Свободнорадикальные процессы и окислительный стресс	34
1.4 Воздействие сероводородсодержащего газа на функциональные системы организма	54
<b>Глава 2. Материалы и методы исследования</b>	71
2.1 Общая характеристика экспериментальных исследований	71
2.2 Морфометрический метод	74
2.3 Биохимические методы	75
2.3.1 Хронобиологические исследования	75
2.3.2 Определение относительного коэффициента массы органа	76
2.3.3 Проба Торна	77
2.3.4 Исследование интенсивности свободно-радикальных процессов	77
2.3.4.1 Определение уровня перекисного окисления липидов	77
2.3.4.2 Определение уровня окислительной модификации белков	78
2.4 Математическая обработка результатов исследований	80
<b>Результаты собственных исследований и их обсуждение</b>	
<b>Глава 3. Хронобиологические особенности околочасовых ритмических колебаний уровня общего белка, альбумина и группы глобулинов в плазме крови крыс в онтогенезе</b>	82

<b>Глава 4. Хронобиологические особенности околочасовых ритмических колебаний общего белка и альбумина в органах иммунной системы крыс</b>	109
4.1. Онтогенетические аспекты околочасовых клеточных ритмов содержания изучаемых белков в ткани лимфатических узлов	109
4.2 Онтогенетические аспекты околочасовых клеточных ритмов изучаемых белков в ткани тимуса	130
4.3 Онтогенетические аспекты околочасовых клеточных ритмов изучаемых белков в ткани селезенки	151
<b>Глава 5. Возрастная динамика свободно-радикальных процессов в плазме крови крыс</b>	176
<b>Глава 6. Возрастная динамика свободно-радикальных процессов в органах иммунной системы крыс</b>	193
6.1 Тимус	193
6.2 Паховые лимфатические узлы	204
6.3 Селезенка	214
<b>Глава 7. Постнатальный онтогенез органов иммунной системы в норме, в условиях хронической гипоксии, вызванной сероводородсодержащим природным газом и воздействии комплексом антиоксидантов на фоне стресса</b>	226
7.1 Возрастные особенности морфофункциональных преобразований тимуса белых крыс	226
7.2 Возрастные особенности морфофункциональных преобразований паховых лимфатических узлов белых крыс	248
7.3 Возрастные особенности морфофункциональных преобразований селезенки белых крыс	267
<b>Заключение</b>	285
<b>Выводы</b>	307
<b>Научно-практические рекомендации</b>	310
<b>Список литературы</b>	311

## Список обозначений и условных сокращений

<b><math>\alpha</math>-ТФ</b>	$\alpha$ – токоферол
<b>АГКМ</b>	Астраханское газоконденсатное месторождение
<b>А/Г</b>	Соотношение содержания альбуминов к глобулинам
<b>Аск. ПОЛ</b>	Скорость аскорбатзависимого ПОЛ
<b>АКМ</b>	Активированные кислородные метаболиты
<b>АО</b>	Антиоксиданты
<b>Ед. оп. пл.</b>	Единицы оптической плотности
<b>МДА</b>	Малоновый диальдегид
<b>М</b>	Молодые (неполовозрелые) животные
<b>ОМБ</b>	Окислительная модификация белков
<b>П</b>	половозрелые животные
<b>ПОЛ</b>	Перекисное окисление липидов
<b>С</b>	Старые животные
<b>Сп. ПОЛ</b>	Скорость спонтанного ПОЛ
<b>СРО</b>	Свободно-радикальное окисление
<b>ССГ</b>	Сероводородсодержащий газ
<b>ССГ+АО</b>	Воздействие природного сероводородсодержащего газа на фоне введения антиоксидантов
<b>ТБК</b>	Продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой
<b>У.ед.</b>	Условные единицы

## Введение

В настоящее время, биологические ритмы признаны важнейшим механизмом регуляции функций организма, обеспечивающим гомеостаз, динамическое равновесие и процессы адаптации биологических систем (Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. и др., 2017; Бродский В.Я., 2021). В связи с этим, хронобиологический подход в онтогенетических исследованиях приобретает все большее значение, так как для любых живых систем свойственна пространственно-временная организация (Бродский В.Я., 2014; Чернышева М.П., 2016; Загускин С.Л., 2016). Среди всех прочих биологических ритмов особое место занимают околочные клеточные ритмы. Не имея явных экзогенных инициаторов, такие колебательные процессы, тем не менее, ведут себя как выраженные осцилляторы (Brodsky V.Y., Lloyd D., 2008; Загускин С.Л., 2016) и их следует рассматривать как важный компонент временной организации тканей.

Ультраниантные ритмы могут служить не только надежным маркером морфологической зрелости, но и функциональной активности ткани (Бродский В.Я., 2021). Регистрируя особенности таких колебаний при воздействии стрессогенных антропогенных факторов, можно выявить токсический эффект, так как они связаны со спецификой клеточного метаболизма и отражают его нестабильность (Фельдман Б.В. и др., 2011; Агаджанян Н.А. и др., 2013; Аношкина Е.В., 2016; Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. и др., 2017).

В этом плане, особый интерес исследуемой проблемы обусловлен ухудшением экологической обстановки, связанной с загрязнением атмосферы серосодержащими продуктами. Одним из факторов экологической опасности для жизнедеятельности организма является сероводород. Являясь составным компонентом природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения (АГКМ), сероводород обладает высокой токсичностью для всего живого (Боев В.М., 2001; Schulber D., Piasecki D., 2001; Доценко Ю.И., 2007; Фельдман Б.В., 2011; Abzhalilova

A.R., 2013; Guidotti T.L., 2015; Логинов П.В., 2016). Ежегодно в воздушный бассейн Астраханской области поступает до 230 тысяч тонн химических веществ, из которых до 90% составляют выбросы от работы промышленных предприятий и автотранспорта. При этом величина комплексной антропогенной нагрузки среды обитания на население, проживающее на урбанизированной территории в 4,9 раза выше, чем в сельской местности, вследствие накопления поллютантов в почве и воздухе (Куценко С.А., 2004; Сетко Н.П., Боев В.М., 2009; Боев М.В., 2013). По данным обследований, проведенным А.Т. Абдрашитовой с соавторами (2011«в») среди 1600 сотрудников предприятия ООО «Газпром добыча Астрахань», преобладающее большинство из них имеют признаки преждевременного старения, снижение иммунитета. Среди населения Оренбургской области за последние 10 лет заболеваемость злокачественными лимфомами выросла в 2 раза (Боев В.М. и др., 2017). Проблема приобретает особую актуальность в связи с недостаточной изученностью иммунного ответа организма человека на территориях с повышенной антропогенной нагрузкой.

В исследованиях ряда авторов показано, что сероводород благодаря способности проникать через гистогематические барьеры и действовать в объеме циркулирующей крови, нарушает обменные процессы между микроциркуляторным руслом и клетками (Ярошинская А.П. и др., 2016), ингибирует электронный транспорт в митохондриях, путем формирования прочной связи с железом в молекулах цитохромоксидаз, изменяет активность митохондриальных ферментов, в том числе и в митохондриях иммунокомпетентных клеток (McGuire P. J., 2019). В результате нарушается биоритм митохондриальной функции, что приводит к биоэнергетическому распаду и образованию АФК (Scialo F. et al., 2017; Calamita P. et al., 2018; Caputi S. et al., 2019). Это существенно отражается на качестве энергообразования и вызывает острую тканевую гипоксию (Wallace J.L., Wang R., 2015; Fukami K., Sekiguchi F., Kawabata A., 2017; Шишкина Т.А. и др., 2018; Наумов А.В. и др., 2020). Согласно исследованию А.М. Косыревой

с соавторами (2019) известно, что гипоксия и иммунные реакции тесно взаимосвязаны между собой на молекулярном, клеточном и организменном уровнях организации. Избыточное накопление свободных радикалов в тканях, приводит к снижению уровня утилизации кислорода, а в конечном итоге к дефициту энергии и развитию оксидативного стресса (Зенков Н.К., 2020). Угнетаются ферменты, нарушается кислотно-щелочное равновесие (Мажитова М.В., 2012; Голубкина Е.В., Дюкарева О.С., Тризно Н.Н. и др. 2019). В результате, разрушающего действия продуктов перекисного окисления липидов на мембраны клеток происходит нарушение процессов передачи информации от внеклеточных регуляторов к внутриклеточным эффекторным системам (Теплый Д.Л., 2019 «б»).

Выраженность защитных реакций организма на внешние воздействия во многом зависит от морфофункционального состояния тканей органов иммунной системы (Родзаевская Е.Б. и др., 2017; Ваш И.Ю., 2019). Тимус как первичный орган иммунной системы чрезвычайно чувствителен к различным внешним и внутренним воздействиям (Донецкова А.Д. , 2013; Москвичев Е.В., 2013; Старская И.С. и др., 2013; Комелькова М.В., 2015; Косырева А.М. и др., 2019; Alexandropoulos K., 2012; Roberts N. et al., 2014; Csaba G., 2016). Это дает основания считать, что возрастные изменения в вилочковой железе играют ключевую роль в ослаблении системы клеточного и гуморального иммунитета, особенно у лиц пожилого и старческого возраста (Кветной И.М. и др., 2005; Полякова В.О., 2007; Федорова Е.С., 2009). Как результат инволюции тимуса, ряд авторов отмечают снижение эффективности антиоксидантной защиты (Мустафин А.Г. и др., 2015; Умбетов Т.Ж., 2018; Теплый Д.Л., 2019«б»; Czesnikiewicz-Guzik M., 2007; Ong A.L.C. et al., 2018; Kolchina N., 2019), нарушение регуляции апоптоза, что может служить причиной преждевременного старения (Абдрашитова А.Т. и др., 2011«в»; Теплый Д.Л., 2019«а»; Хужахметова Л.К. и др., 2019; Бажанова Е.Д., Анисимов В.Н., 2020; Donehower L.A., 2002; Gentry A. et al., 2005; Beyfuss K. et al., 2018; Vineetha R.C. et al., 2018) и способствует формированию

различных возрастных патологий (Теплый Д.Л., 2016; Стручко Г.Ю. и др., 2018; Giorgi C. et al., 2018).

В связи с этим, одним из эффективных путей сохранения и поддержания здоровья населения представляется поиск доступных адаптогенов для снижения интенсивности свободно-радикальных процессов, повышения активности ферментных систем и устойчивости тканей органов иммунной системы к экзогенным повреждающим воздействиям, а так же поиск средств необходимых для своевременной коррекции патологии иммунной системы на фоне хронического стресса.

Анализируя литературные источники можно сделать вывод, что вопрос о биоритмальных возрастных и тканеспецифических особенностях реакции тимуса, лимфоузлов и селезенки в норме, при гипоксии, индуцированной хроническим воздействием сероводородсодержащего природного газа, а так же об интенсивности динамики в них процессов свободно-радикального окисления и уровня апоптоза, обусловленные стрессом на фоне коррекции комплексом антиоксидантов, остается малоизученным.

Учитывая вышеизложенное, изучение хронобиологических аспектов и морфологии тканей органов иммунной системы в онтогенезе с учетом влияния экстремальных условий внешней среды является весьма актуальным и перспективным, а также будет иметь несомненный интерес для понимания механизмов поддержания гомеостаза и адаптации к работе в условиях гипоксии.

**Цель исследования** - выявить особенности хронобиологических процессов на разных этапах онтогенеза в экспериментальной модели стресса и коррекции его антиоксидантным комплексом.

Для реализации цели были определены следующие **задачи**:

1. Изучить окологасовые ритмы биохимических показателей в плазме крови (уровня содержания общего белка, альбумина и глобулинов) и в тимусе, в паховых лимфатических узлах, селезенке (уровня общего белка и альбумина) у крыс разного возраста в норме и подвергшихся хроническому воздействию



сероводородсодержащим газом Астраханского газоконденсатного месторождения.

2. Провести анализ динамики свободно-радикальных процессов в плазме крови и в органах иммунной системы у крыс разного возраста в норме и в ответ на действие природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения.

3. Определить возрастные особенности морфофункционального состояния тканей иммунной системы крыс и морфогенеза, в том числе, по уровню апоптоза в этих тканях, в экспериментальной модели хронического стресса.

4. Выявить действие антиоксидантного комплекса на окологасовые ритмы исследуемых показателей в плазме крови и тканях органов иммунной системы в экспериментальной модели действия природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения.

5. Изучить действие комплекса антиоксидантов на свободно-радикальные процессы в плазме крови и тканях иммунной системы крыс в экспериментальной модели хронического стресса.

6. Установить влияние антиоксидантного комплекса на морфогенез и морфофункциональное состояние тканей иммунной системы крыс в экспериментальной модели действия природного газа Астраханского газоконденсатного месторождения.

**Научная новизна.** Экспериментальное исследование вносит важный вклад в изучение механизмов и закономерностей формирования хронофизиологических процессов в организме под влиянием экологических факторов среды, в изменение характера и интенсивности биоритмальных процессов при воздействии природного сероводородсодержащего газа, а также в условиях введения комплекса антиоксидантов на фоне гипоксического стресса. В работе впервые:

- установлено, что маркером функциональной активности плазмы крови и тканей органов иммунной системы в онтогенезе животных является окологасовой ритм содержания белков в норме и в условиях стресса,

проявляющийся в изменении кинетических кривых: в снижении амплитуды колебаний, изменении периодов ритма.

- с применением хронобиологического, биохимического, общегистологического и цитофотометрического исследований изучены структурно-функциональные и биохимические показатели развития тканей органов иммунной системы крыс на этапах постнатального онтогенеза в норме, при воздействии природного сероводородсодержащего газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса.

- сопоставлена интенсивность биоритмической организации и показаны неизвестные ранее отличия в динамике окологасовых ритмов уровня содержания изучаемых белков в плазме крови, тимусе, в паховых лимфатических узлах и селезенке крыс разного возраста при нормальном развитии, при воздействии природного газа АГКМ и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса. Установлен период наибольшей чувствительности к таким воздействиям.

- выявлены особенности возрастной динамики свободно-радикальных процессов в плазме крови и в органах иммунной системы крыс в норме. Проведена оценка влияния природного сероводородсодержащего газа на уровень свободно-радикальных процессов на изучаемых этапах постнатального онтогенеза и в условиях применения антиоксидантов на фоне стресса.

- прослежена взаимосвязь структурных изменений в органах иммунной системы крыс с возрастом экспериментальных животных. При этом установлены эффекты влияния на разных этапах онтогенеза используемого комплекса антиоксидантов.

- доказано корригирующее влияние комплекса антиоксидантов в условиях гипоксического стресса на состояние апоптоза клеточных элементов иммунной системы экспериментальных животных на разных этапах постнатального онтогенеза.

- изучены особенности структурно-функционального состояния клеток органов иммунной системы крыс в условиях хронической гипоксии, вызванной воздействием сероводородсодержащим газом, модифицирующим околочасовой ритм в онтогенетическом аспекте.

- показана возможность комплексного применения тималина и альфа-токоферола ацетата в качестве адаптогенов, способных повышать устойчивость белков плазмы крови, и одновременно синхронизировать деятельность иммунокомпетентных клеток тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки, для поддержания гомеостаза и адаптационных возможностей иммунной системы при стрессе.

### **Теоретическая значимость работы.**

Направленность экспериментального исследования и полученные данные вносят весомый вклад в развитие теории стресса, существенно дополняя и расширяя современные представления о роли экологических факторов в формировании циклических процессов и изменении уровня их организации в организме.

Результаты выполненных исследований доказывают наличие возрастных особенностей динамики околочасовых ритмов уровня содержания общего белка, альбумина и глобулинов в плазме крови, а так же количества общего белка и альбумина в тканях органов иммунной системы, которые обеспечивают поддержание гомеостаза и адаптацию к работе в условиях гипоксии.

В процессе исследования доказано, что популяция иммунокомпетентных клеток модифицирует околочасовой ритм уровня содержания общего белка и альбумина в пределах адаптивных возможностей ткани тимуса, паховых лимфоузлов и селезенки, выбирая оптимальный для этого набор периодов и амплитуды колебаний, что вносит существенный вклад в изучение фундаментальных проблем биоритмологии, дает возможность концептуально шире посмотреть на вопросы формирования механизмов и закономерностей морфофункциональных адаптивных

возможностей тканей органов иммунной системы и плазмы крови на разных этапах онтогенеза.

Полученные данные, несомненно, важны для прогнозирования эффектов адаптивного иммунитета.

Экспериментальное исследование вносит весомый вклад в развитие новых современных научных направлений в биоритмологии: хронофизиологии и хроноэкологии.

### **Практическая значимость работы.**

Полученные данные о состоянии плазмы крови, возрастных и тканеспецифических особенностях реакции органов иммунной системы на действие стрессогенного фактора промышленного происхождения, а так же данные об особенностях динамики процессов свободно-радикального окисления, обусловленных стрессом, могут служить обоснованием возможности комплексного использования антиоксидантов для замедления темпов апоптоза и своевременной коррекции реактивности иммунной системы на фоне хронического стресса.

Установленные периоды наибольшей чувствительности к негативному экзогенному влиянию сероводородсодержащего газа могут использоваться для разработки комплекса охранных и профилактических мероприятий в экологически неблагоприятных зонах, где возможно внезапное появление или длительное присутствие токсикантов.

Результаты исследования могут служить основой для выбора наиболее эффективных методов профилактики и тактики коррекции хронической гипоксии, вызванной воздействием сероводородсодержащего газа. Результаты исследований могут быть использованы в лекционных курсах и на практических занятиях в преподавании медико-биологических дисциплин (биологии, анатомии, гистологии, общей, возрастной и экологической физиологии).

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. Онтогенетические изменения окологасовых осцилляций содержания белков плазмы крови и тканевых белков характеризуются снижением амплитуды и удлинением периодов колебаний у старых крыс по сравнению с неполовозрелыми и половозрелыми животными.

2. Адаптационный механизм при действии хронического стресса проявляется в снижении амплитуды колебаний, сглаживании кинетической кривой, изменении периодов окологасовых осцилляций, уровня содержания белков, интенсификации свободно-радикальных процессов в плазме крови и тканях иммунной системы, а так же эозинопенией. Степень данных изменений зависит от возрастных особенностей уровня метаболических процессов.

3. В условиях хронического стресса наиболее выраженные морфологические изменения в тканях тимуса, лимфатических узлов, селезенки (полнокровие сосудов, очаги диапедеза эритроцитов, измельчение и распад глыбок хроматофильного вещества, снижение плотности расположения иммунокомпетентных клеток), а так же повышение уровня апоптоза в тканях иммунной системы характерны для неполовозрелых и старых животных.

4. Воздействие комплексом антиоксидантов (тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата) способствует снижению влияния хронического стресса на изменение амплитуды колебаний биохимических показателей в плазме крови и тканях иммунной системы у животных разных возрастных групп. За счет антиоксидантного и антиапоптотического действия комплекс препаратов наиболее выражено защищает ткани старых животных как в норме, так и в условиях хронического стресса.

**Апробация материалов диссертации.** По результатам исследования опубликованы: 51 научная работа, в том числе статьи в изданиях, рекомендованных ВАК для докторских диссертаций - 16, научные статьи в международных изданиях – 14 (в том числе статьи в журналах Scopus, WoS, UIRichs Web – 10), 1 – монография «Окологасовые клеточные ритмы при

различных функциональных состояниях организма и токсическом воздействии», 4 – учебных пособия: «Онтогенез и филогенетически обусловленные пороки развития органов иммунной системы»; «Общая биология. Часть 1» и «Общая биология. Часть 2» Рекомендованных УМО по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России для студентов медицинских вузов; «Анатомия и физиология человека для поступающих в ВУЗ» рекомендовано УМО РАЕ (Международной ассоциации ученых, преподавателей и специалистов).

Основные положения диссертации доложены и обсуждены на: Международной конференции «Актуальные вопросы морфологии» посвященной 100-летию со дня рождения проф. Б.З. Перлина, Молдова 2012г.; IX Международной научно-практической конференции «Достижения фундаментальных наук и возможности трансляционной медицины в решении актуальных проблем практического здравоохранения», Астрахань 2013г.; Международной конференции «Теоретические и практические аспекты науки и образования», Волгоград 2014г., 2015г.; XIV Международной научно-практической конференции «Современные концепции научных исследований», Москва 2015г.; III-ей Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение», Астрахань 2016г.; в Российско-китайском журнале «Содружество», 2016г.; Международной конференции Прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины», Астрахань 2016г.; Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации», Санкт-Петербург 2016г.; Международной научно-практической конференции «Фармацевтические науки: от теории к практике», Астрахань 2016г.; Международной научно-практической конференции "Общество, технология и окружающая среда», Москва 2017г.; в I-ой Международной научно-практической конференции "Исследования, разработки и методы в области медицины и фармацевтики», Саратов 2017г.; Международной научно-практической конференции

«Структурные преобразования органов и тканей в норме и при воздействии антропогенных факторов», Астрахань 2017г.; 44-ой Международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы в современной науке и пути их решения» Евразийского Союза Ученых, Москва 2017г.; в VI International Scientific Conference Global science «Development and novelty», Geneva 2017г.; Международной научно-практической конференции «Единство науки, образования и практики медицине будущего», Москва 2018; в International Scientific Conference Open science 2.0, North Carolina, USA 2018г.; в XIV Конгрессе Международной ассоциации морфологов, Астрахань 2018г.; Международной научно-практической конференции «Актуальные исследования висцеральных систем», Астрахань 2018г.; на VIII Съезде НМОАГЭ, Москва 2019г.; на VII International scientific practical conference, Brussel, 2019г.; на International scientific practical conference, Washington, 2019г.; Международной конференции Прикаспийских государств «Актуальные вопросы современной медицины», Астрахань, 2019г.; Научно - практической конференции «Молодые ученые в решении актуальных проблем современной физиологии», Астрахань, 2020г.; в X International scientific practical conference, New York, 2019г.; в Internarional Conference «Scientific Research of the SCO countries: Synergy and Integration», Beijing, China, 2020.

**Структура, объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из: введения, обзора литературы, описания материала и методов исследования, результатов собственного исследования, заключения, выводов и списка литературы. Диссертация представлена на 388 страницах, содержащих 48 таблиц, 170 рисунков и микрофотографий, две схемы. Список литературы включает 658 источников, в том числе 408 – отечественных и 250 – зарубежных.

# **Глава 1. Анализ формирования околочасовых ритмов и ответной реакции организма человека и животных на фоне стрессогенных воздействий (обзор литературы)**

## **1.1 Околочасовые клеточные ритмы - как фактор адаптации к изменяющимся условиям внешней среды**

Изучение околочасовых клеточных ритмов началось в пятидесятых годах двадцатого века. Именно тогда двумя разными количественными методами впервые было показано наличие периодических колебаний содержания белка в клетках сетчатки, которые практически совпали (Бродский В.Я., 1960, Бродский В.Я., Кузнецова А.Ф., 1961). Впоследствии подобные колебания сухой массы белков были найдены в железистых клетках и гепатоцитах (Новикова Т.Е., Нечаева Н.В., 1982; Brodsky V.Y. et al., 2000; Brodsky V.Y. et al., 2005).

В дальнейшем, такие колебательные процессы, по аналогии со всеми прочими биологическими ритмами, были классифицированы как «околочасовые» или циркохоральные (circahoralian) ритмы (Brodsky V.Y. et al., 1992). Околочасовые биологические ритмы, зарегистрированные на уровне клетки, ткани и целостного организма включают все колебательные процессы, период которых составляет от 20 до 120 минут (Бродский В.Я., 2000; Brodsky V.Y. et al., 2004).

Как и все остальные биологические ритмы, околочасовые клеточные ритмы являются универсальным свойством живой материи и зарегистрированы у организмов, стоящих на различных этапах эволюционного развития (Brodsky V.Y., Lloyd D. et al., 2008; Бродский В.Я., 2000; Чернышева М.П., 2016; Загускин С.Л., 2016).

W.A. Knorre (1973) выявил у бактерий околочасовые колебания ритма синтеза  $\beta$  - галактозы и матричной РНК. Такие исследователи, как Н. Sakai (1959), Y. Mano (1977) зарегистрировали колебания т-РНК в бластоцитах морского ежа. А.Д. Харазова с соавторами (1981) описывают околочасовую



периодичность интенсивности белкового метаболизма в тканях моллюсков, а также у морских звёзд, актиний, полихет и мокриц.

С околочасовым ритмом колеблется сухой вес ганглиозных клеток амфибий и птиц (Бекчанов А.Н., 1985; Фельдман Б.В., 2008), железистых клеток крысы (Бродский В.Я. и др., 1973), а также ганглионарных, биполярных, и нейросенсорных клеток крысы и мыши (Нечаева Н.В., 1977; Арефьева А.М., Кунина И.М., 1979; Бекчанов А.Н., 1985; Бродский В.Я., 2000; Фельдман Б.В. и др., 2008).

Околочасовые осцилляции были обнаружены и в изолированной живой клетке (Brodsky V.Y. et al., 2000). Так, С.Л. Загускин с соавторами (1980) зарегистрировали околочасовые ритмы содержания белка в живых нейронах речного рака, затем Л.Л. Литинская с соавторами (1987) зафиксировали в культуре ткани гепатоцитов околочасовые колебания уровня рН, в последующих работах М.И. Косых с соавторами (1991) выявили околочасовые осцилляции энергетического потенциала гепатоцитов. Колебания белковой массы и размеров лимфоцитов зарегистрировал Г.Г. Левин с соавторами (2000). В организме человека полуторачасовые ритмы парадоксального сна и околочасовую периодику электровозбудимости клеточных мембран зарегистрировали W. Huang (2011) и К. Nonna (2012), уровень бодрствования и другие физиологические показатели зафиксировали В.М. Еськов с соавторами (2007), А.А. Говорухина с соавторами (2009), M.S. Bray, M.E. Young (2011), J.L. Barclay (2012).

В 1987г. С.И. Рапопорт с соавторами выявили ритм меченых аминокислот в клетках слизистой оболочки желудка у здоровых людей и больных язвенной болезнью, впоследствии в 2003г. Н.Д. Кислый с соавторами изучили ультрадианный ритм кислотной активности желудочного сока.

В работе В.Я. Бродского (2000) собраны следующие данные о периодичности околочасовых осцилляций в разных объектах исследования:

Объекты	Ритм	Периоды, мин
Белки Более 10 клеточных типов: in situ и in vitro	Синтез белка, включение аминокислот	20-100
В бластомерах морского ежа, гепатоцитах in vitro	t-РНК	30-50
В нейронах сетчатки, клетках слюнной железы и печени, лимфоцитах	Массы клетки	20-110
В нейронах рака in vivo, мышцах крысы	ритм концентрации РНП	20-60
В гепатоцитах крысы in vitro	ритм концентрации альбумина	30-50
В клетках MEL	ритм концентрации белка с молек. массой 63 кДа	20-60
В клетках HL in vitro	ритм концентрации белка с молек. массой 50 кДа	15-30
В гепатоцитах in vitro, в срезах околоушной железы	ритм секреции	40-100
В 10 клеточных типах	ритм активности ферментов	20-80
В гепатоцитах in vitro	ритм концентрации АТФ	20-60
В бластомерах морского ежа, гепатоцитах	ритм концентрации цАМФ	20-60
В бластомерах морского ежа	ритм содержания полиаминов	40-60
В клетках Acanthamoeba	ритм уровня цитохромов	Средний 69
В бластомерах морского ежа, в клетках дрожжей, Acanthamoeba, Tetrahymena	ритм дыхания клеток	20-80
В гепатоцитах in vitro, в бластомерах морского ежа	ритм уровня рН цитоплазмы	30-70

В.Я. Бродский (2014) так же описывает ритмы уровня некоторых гормонов в сыворотке крови человека. Так, например, концентрация лютеинизирующего гормона колеблется в среднем с периодичностью от 40 до 60 минут, уровень тиреоидного гормона – с периодом до 80 минут, ритм соматотропного гормона в 150 минут, а фолликулостимулирующего и аденокортикотропного гормонов колебания составляют 120 и 90 минут соответственно.

Ультраниантные осцилляции были зарегистрированы и в культурах гепатоцитов (Бродский В.Я. и др., 2002; Brodsky V.Y. et al., 2004, 2005).

В результатах исследований О.И. Кулаева с соавторами (1967), В.Г. Карманова с соавторами (1982) отмечено, что околочасовой ритм различных параметров клеток присущ не только животным, но и высшим и низшим организмам растений. Так, в 1971г И.А. Воробьёва с соавторами смогла зарегистрировать ультрадианные осцилляции потенциала мембраны в клетках водоросли под воздействием токсического вещества.

До настоящего времени в колебательных процессах, с околочасовой периодичностью, в отличие от всех других ранее изученных биологических ритмов, не выявлено каких-либо экзогенных инициаторов. Являясь эндогенными, эти осцилляции определяются собственными свойствами как одной клетки, так и клеточной популяции или всего органа в целом, поэтому служат объективной характеристикой живых структур.

Ультрадианный ритм зарегистрирован так же в растущих культурах тканей. Так, С.Л. Загускин (1983) отмечает, что с периодом около одного часа колеблются: электрическая активность в изолированном рецепторе R-15 аплизии, а так же скорости перераспределения тигроида, агрегация эндоплазматического ретикулума и аксоплазматические токи. В культурах тканей с ритмом около часа изменяются размеры ядер и клеток (Brodsky et al., 2000), проницаемость в клеточных мембранах (Klevecz R., 1969), уровни содержания рН и суммарного белка клетки (Оглоблина Т.А. и др. 1983). В монокультуре гепатоцитов околочасовые осцилляции синтетической активности и выведения белка были зарегистрировали Т.Е. Новиковой с соавторами (1982), Brodsky et al. (2005).

В 1999г. А.Д. Харазова установила, что колебания включенных аминокислот в изолированных жабрах мидий наблюдаются через сутки после изоляции органа, при этом интенсивности колебаний не снижались, а в некоторых случаях даже увеличивались. Зарегистрированные околочасовые осцилляции в изолированной клетке и в органах свидетельствуют против их центральной регуляции. Это еще раз подтверждает эндогенность колебательных процессов. Главное доказательство, свидетельствующее об их

эндогенной природе, является обнаружение таких осцилляций после нарушения нервных регуляций. Так, например, по данным В.Я. Бродского и Т.К. Дубовой (1995) ритм количественных изменений уровня суммарных белков в клетках слюнных желез крыс и гепатоцитах долго сохранялись у денервированных и наркотизированных животных. Вывод один: нервный контроль не создаёт ритм, а всего лишь синхронизирует уже существующие колебания, либо распределяет равномерно фазы осцилляций в околочасовом процессе. В этом плане принципиально важными явились наблюдения Н.В. Нечаевой (1989) и А.Д. Харазовой (1999) об устойчивости околочасового ритма в тканях полихет, моллюсков и иглокожих при изменениях температуры морской воды и ее солёности. Понижение или увеличение температур среды, а так же изменения концентраций соли способствовали колебанию среднего уровня суммарного белка в десятки раз в клетках этих животных, но при этом практически не воздействовали на продолжительность периодов ритма. Аналогично, по данным полученным Л.Л. Литинской с соавторами (Litinskay L.L. et al., 1978), измеряя *in vitro* размеры живых клеток при понижении температур среды до двадцати градусов, обнаружила, что периоды ритмов практически не менялись. Наиболее глубокая гипотермия уменьшала только амплитуду в колебаниях размера изучаемых клеток.

Митотическая активность клеток так же не влияет на околочасовые осцилляции. В исследованиях Н.Н. Ротт в 1984г. на примере процессов дробления доказано, что в бластомерах морских ежей блокирование митозов холодом, колхицином и циклогексимидом не способствовало исчезновению околочасовых ритмов скорости синтеза ДНК, активности включению аминокислот в синтезируемых белках, не влияло на активность АТФ-аз и на количество SH - групп в белках клеток на различных стадиях митоза.

В одной клетке периоды околочасовых осцилляций внутриклеточных процессов нерегулярны и почти всегда переменны, а при этом факторы внешней среды, синхронизирующие околочасовую периодику, пока еще не

известны, то представляет особый интерес изучения механизмов внутриклеточной инициации и урегулирования этих процессов. Согласно данным Y. Mano (1977), П.Я. Бойкова (1987), В.Я. Бродского и др. (2002), В.Я. Бродского (2001), Brodsky et al. (2004) такие инициации находятся в цитоплазме клеток, где и были зарегистрированы окологасовые колебания. В экспериментальных исследованиях, проведенных этими авторами, доказано, что при введении препаратов, которые обладают способностью заблокировать процессы транскрипции, не уничтожало окологасовые ритмы включения определенных аминокислот в белки не только в культурах клеток, но и в тканях органов крыс.

Б. Гудвин (1966) и D.A. Gilbert (1968) считают, что основу механизмов осцилляций в клетках составляют принципы обратных связей.

Такие авторы, как Н. Sakai, К. Dan (1959) предположили зависимость клеточных циклов от изменения уровня содержания тиолов и сульфгидрильных групп. Затем, в более поздних исследованиях, проведенных Мано (Y. Mano, 1977), была доказана зависимость регуляции окологасовых колебаний от концентрации SH-групп в KCl-растворимом белке (KSP-белке), который присоединяет молекулу аминоксил-т-РНК к рибосоме.

I. Yasumasu et al. (1973) при исследовании процессов эмбриогенеза у куриного эмбриона и морских ежей пришел к заключению, что окологасовые ритмы белкового синтеза имеют связь с изменениями уровня содержания в клетках циклического АМФ. Ю.Г. Юровицкий с соавторами (1990) в ходе изучения окологасовой ритмики белкового синтеза в клетках печени, сделал вывод о возможной взаимосвязи этих процессов с концентрациями адениловых нуклеотидов.

Согласно данным Л.Л. Литинской (1987) и Т.А. Оглоблиной (1983), ритмы синтеза и распада белка в клеточных культурах связаны не только с колебаниями уровня содержания и активности ферментов, но и с изменениями в концентрации водородных ионов в клетках.

Для понимания механизмов регуляции околочасовых ритмов синтеза белков является важным исследованием по изучению воздействия на эти процессы различной концентрации ионов  $\text{Ca}^{2+}$  (Загускин С.Л., 1981; Бродский В.Я. и др., 2002). Экспериментально авторами доказано, что при блокировании  $\text{Ca}^{2+}$  в гепатоцитах ритм синтеза белков не определяется. С.Л. Загускин (1981) свидетельствует, что  $\text{Ca}^{2+}$  является общим звеном при проведении различных реакций в клетках.  $\text{Ca}^{2+}$  вместе с циклическими нуклеотидами может быть вторичным посредником, оказывающим влияние на внутриклеточные процессы. Через уровень  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле и белок кальмодулин вместе с циклическими нуклеотидами и кальцием микротрубочек регулируются реакции клеток на внешние воздействия, при этом изменяется форма клеток и ядра, интенсивность синтетических и энергетических процессов. «Старение клетки может сопровождаться понижением амплитуды колебаний околочасового ритма белкового метаболизма и коррелирует с концентрацией  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле» (Бродский В.Я., 2014).

По мнению В.Я. Бродского (2001) «околочасовые клеточные ритмы, очевидно, являются фундаментальным свойством самой системы синтеза и распада белковых молекул, а так же их конформационных превращений». В экспериментах было доказано, что при введении в культуру четырёхчленного пептида ливагена, способного нормализовать белковый метаболизм ткани, не только уровень синтеза белков в гепатоцитах существенно увеличивался, но и амплитуда околочасового ритма.

Многие авторы (Ebert et al., 1993; Lloyd A., Lloyd D., 1993; 1995; Brodsky V.Y., 2006; Brodsky V.Y., Lloyd D., 2008) объясняют нерегулярность околочасовых клеточных ритмов с позиции теории фракталов. Сами фракталы – это внешние хаотические изменения какого – либо признака, Однако они не являются полностью беспорядочными изменениями и совершенно случайными. По мнению этих исследователей «...хаотичность имеет внутреннюю структуру и порядок, и это прослеживается во времени.

При этом фрактальная структура не привносится извне, а является собственным свойством клетки. Кроме того, фракталы изменяют свои конкретные параметры: период колебаний, сохраняя при этом общий характер ритма. Наличие фракталов является важным эволюционным и адаптивным свойством биологической системы...». Авторами так же отмечено, что при изменении условий существования, либо при различных функциональных состояниях, самим организмом отбираются наиболее оптимальные частоты колебаний. Так, при целом ряде заболеваний человека наборы частот ритмических процессов или «резервы частот» сокращаются и это состояние в медицине названо было «динамическая болезнь» (Ebert T. et al., 1993). В биоритмологии применительно к околочасовым ритмам нередко стали использовать понятие «контролируемый хаос» (Бродский В.Я., 2000). В.Я. Бродским отмечено, что при адаптации организма к изменяющимся условиям внешней среды происходит отборы оптимальных частот колебаний из нерегулярных околочасовых ритмов. Так, например, при режиме питания крыс в норме ритм синтеза белков в ткани слюнных желез имел период от 20-ти до 110-ти минут. При кормлении с 2-х и 6-ти часовым интервалом у крыс периоды околочасовых ритмов колебались от 20 до 50-ти минут и от 70-ти до 110 минут (Бродский В.Я. и др., 2000). Н.В. Нечаевой и др. (1982) показана наименьшая вариабельность околочасовых колебаний у мокриц, т.е. у животных находящихся в естественной среде в постоянных условиях внешней среды, а наибольшие колебания выявлены у мидий, которые существуют при резких изменениях среды обитания. Однако, автор отмечает, что, несмотря на существенные различия в длине периодов околочасовых ритмов у мидии, внутренняя структура их, т.е. фрактальность, практически совпадает.

Таким образом, основываясь на закономерностях фрактальности околочасовых осцилляций, можно сказать, что именно ультрадианные ритмы различных внутриклеточных реакций могут быть основой суточных биоритмов, являющихся, в свою очередь, ведущими в биоритмологической

структуре всего организма человека (Мустафин А.Г., Бульчук О.В., 2015) и других млекопитающих (Загускин С.Л. и др., 2016; Brodsky V.Y., Lloyd D., 2008).

Рассогласование ритмов (десинхроноз) на одном или на смежных иерархических уровнях может приводить к нарушениям гомеостаза, к снижениям адаптивных возможностей организма в целом и в более тяжелых случаях способствует формированию патологического состояния. Исходя из всего этого, следует, что биосистема может быть устойчива до тех пор, пока десинхроноз не выйдет за пределы всех гомеостатических возможностей организма. Явление функционального десинхроноза, т.е. отклонение в пределах возможностей гомеостаза, по мнению С.Л. Загускина (2000; 2016) имеет биологическую значимость и оправдано для процессов эволюционного морфогенеза и формирования приспособлений организма.

Каждая клетка в отдельности имеет собственные эндогенные околочасовые ритмы в различных физиологических процессах, однако в тканях организма в целом и в длительно растущих культурах клеток околочасовые ритмы синхронизируются таким образом, чтобы обеспечивать наиболее оптимальные условия функционирования. Возможности синхронизаций индивидуальных клеточных биоритмов в культурах тканей показана Р. Duffy (1971) и А.М. Векслером с соавторами (1973), при изучении осцилляций сухого веса и размера ядра клеток. К. Goshima (1973), И.К. Сванидзе и Е.Б. Дидимова (1974) исследуя живые клетки глии и монослойную культуру миоцитов обнаружили, что в большей степени синхронизируются ритмические процессы в контактирующих клетках. Диссоциация культур способствовала разобщению индивидуальных околоклеточных осцилляций по фазам. По мнению этих авторов, при синхронизации колебаний разных внутриклеточных процессов осуществляется перенос биологически активных веществ непосредственно в места прямых межклеточных контактов. При этом, как показали исследования К. Ambrose (1967), Л.М. Чайлахян (1981), В.П. Божковой и др.



(1974), проницаемости мембраны в таких контактах и регистрируемые электрические характеристики всегда выше, чем в несоприкасаемых областях. В процессе онтогенеза проницаемости контактирующих участков в наружных клеточных мембранах при трансмембранном переносе различных веществ тоже закономерно изменяются, это отражается на возможностях проявления ритма в тканях развивающегося организма (Максимова Е.В., 1979; Чайлахян Л.М., 1981; Bennet M.W. et al., 1981; Ротт Н.Н., 1984). В экспериментах проведенных на ранних этапах онтогенеза этими авторами доказано: при синхронном делении клеток проявляется окологосовый ритм. На стадии поздней бластуляции связи между бластомерами ослабевают, а деление становится асинхронным, в результате окологосовые осцилляции не регистрируются. В популяции клеток происходит ионный обмен и это тоже может быть каналом клеточной взаимосвязи (Brodsky et al., 2003). Так же доказано, что в области контактирующих участков мембран возможно прохождение внутрь клеток нуклеотидов, аминокислот и полипептидов с молекулярной массой в 1000 Дальтон. При этом не исключается фактор синхронизации и дистантные взаимодействия между клетками. Г.А. Костенко и др. (1973) в результатах своих работ показывают, что синхронные колебания уровней некоторых биохимических и биофизических показателей в культуре карциномы Эрлиха могут сохраняться и при разведении 1:1600, где между клетками отсутствует непосредственный контакт. В этих случаях межклеточные пространства, заполненные общими субстратами, осуществляют перенос биоактивных веществ и являются синхронизаторами индивидуальных клеточных окологосовых осцилляций (Бродский В.Я., 2000).

В дальнейших исследованиях В.Я. Бродского, приводятся убедительные данные о том, что ганглиозиды способны осуществлять синхронизацию окологосового ритма отдельных клеток в ткани (Бродский В.Я., 2014; Brodsky V.Y. et al. 2000). Впоследствии эти гликолипиды были обнаружены в клетках млекопитающих. Обладая рядом важнейших

физиологических функций, они способны оказывать влияние на внутриклеточный метаболизм. Концентрируясь в наружной клеточной мембране, в цитоплазме, либо в межклеточной среде, ганглиозиды способны отделяться от мембран в одних клетках и встраиваться в мембрану других. При этом они могут осуществлять рецепторную функцию, присоединяя и перенося в клетки различные биоактивные вещества. Важна так же роль этих макромолекул как Со-рецепторов различных биологически активных соединений, так как оказывают влияние на чувствительность клеток к факторам роста, инсулину и нейромедиаторам. На молекулярно-генетическом уровне сами ганглиозиды, а так же продукты их обмена могут изменять активность ферментов протеинкиназ и аденилатциклазы, влиять на интенсивность эндо - и экзоцитоза ионов кальция.

По данным работы 1996г. В.Я. Бродского с соавторами доказано, что добавляя в свежую бессывороточную среду с культурами гепатоцитов комплекса ганглиозидов: GM1; GD1a; GD1b; GT1b ритма синтеза белков возобновляется. В качестве контроля в эксперименте использовалась среда без присутствия ганглиозидов, ритм в ней не регистрировался. В более поздних исследованиях (Brodsky V.Y. et al. 2003) было выяснено, что ганглиозид или GM1, или GD1a может синхронизировать окологасовой ритм. Другие три ганглиозида не обладали такими способностями.

Выяснено так же, что интенсивность метаболизма синхронизирует окологасовые клеточные ритмы. Например, при изучении биоптатов слизистой желудка регистрировали окологасовые ритмы синтеза белков только при остром течении язвенной болезни, т.е. при усилении белкового метаболизма, и ритм не обнаружили в период ремиссии болезни (Рапопорт С.И. и др., 1987; Brodsky V.Y. et al. 2000, 2005).

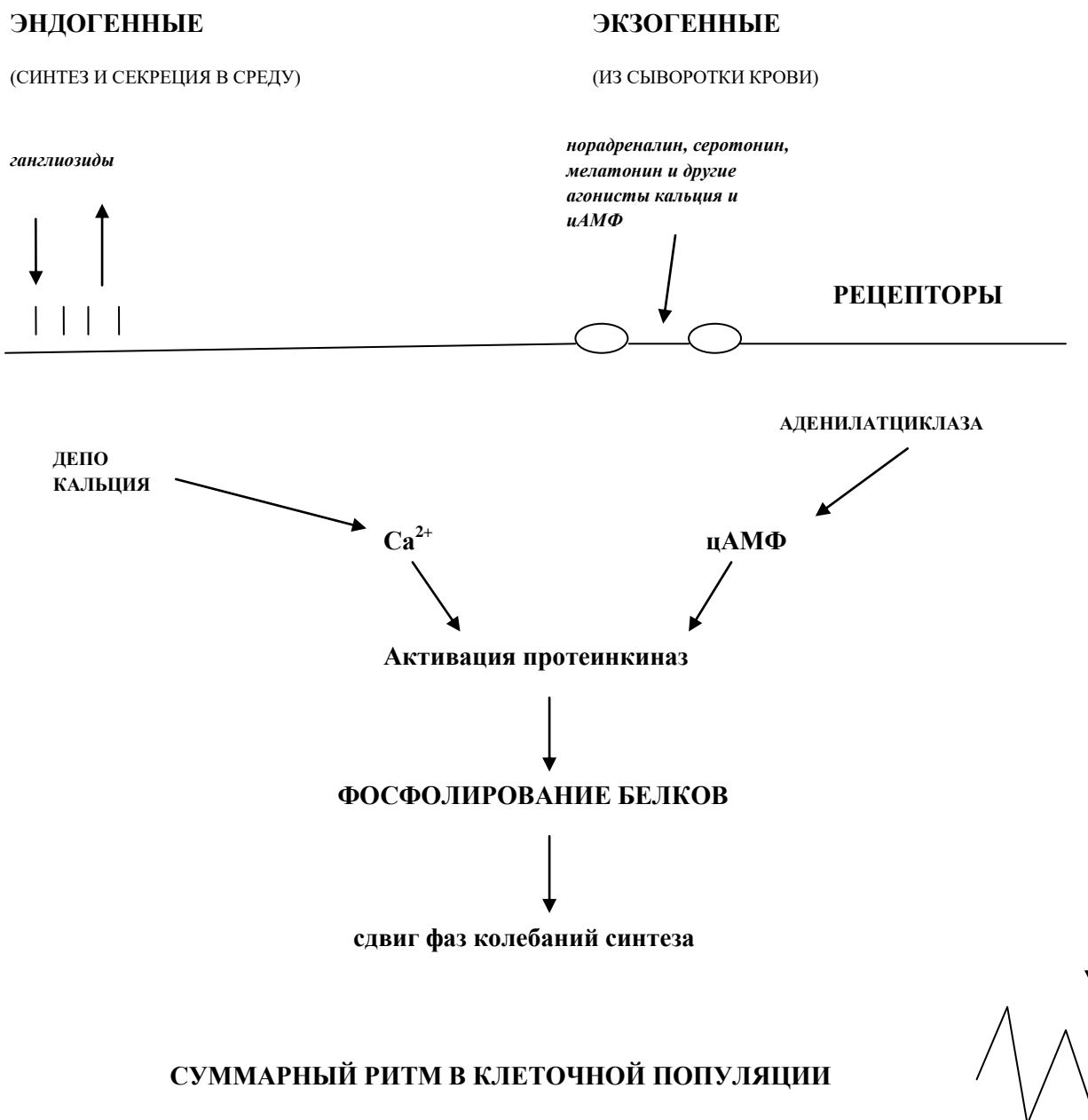
В целом организме окологасовые ритмы синтеза белков синхронизированы в различных клетках и в тканях одного органа: в слюнных и поджелудочной железах, в печени, в сетчатке глаза, в головном мозге

(Бекчанов А.Н., 1985; Brodsky V.Y. et al. 2000, 2005; Фельдман Б.В., 2011; Водолажский Г.И., 2011).

На представленном рисунке из работы В.Я. Бродского (2014) приведена последовательность основных процессов, приводящих к синхронизации клеток и организации ритма синтеза белка в клеточной популяции.

## РИТМА НЕТ

### СИГНАЛЬНЫЕ ФАКТОРЫ ОРГАНИЗАЦИИ РИТМА СИНТЕЗА БЕЛКА



Колебания ритма с околочасовой периодичностью могут выявляться и на ранних стадиях развития индивидуума. Так, по результатам исследования В.Я. Бродского (2000), они могут регистрироваться рано – на стадии оплодотворения яйцеклетки. Затем по данным Н.Н. Ротт (1983; 1984) при дроблении с околочасовой периодичностью меняются интенсивности синтеза белков в самих бластомерах, поступление из внешней среды в них аминокислот и ряда предшественников ДНК.

L. Edmunds et al. (1981), Н.Н. Ротт (1984), С.Л. Загускин и др. (1991) считают, что описанная у зародыша взаимосвязь между околочасовыми и околосуточными колебаниями существует и у взрослого организма. По мнению указанных исследователей, в основе таких осцилляций лежат единые механизмы, но именно околочасовые ритмы могут рассматриваться базисными в биоритмологической структуре всего организма.

Рассматривая выше сказанное можно сделать следующие заключения: околочасовые биоритмы это внутренние свойства клетки, но не ткани. Они регистрируются в каждой отдельно взятой клетке, и не обусловлены функциями группы клеток. Околочасовые осцилляции не обусловлены процессами клеточных делений и при блокировании митоза ритм не уничтожается. В популяции клеток обнаружение или отсутствие ритма зависит от характера межклеточных взаимодействий и синхронизации, а околочасовые осцилляции вполне могут быть маркером функционального состояния организма в целом. Степень синхронизации клеток влияет на амплитуду околочасовых ритмов зарегистрированных в тканях или в органах. Околочасовые осцилляции не регулярные и периоды их переменны с 20 минут до 2–3 часов, что обусловлено особенностью метаболизма в самой клетке. Ритмы околочасовые адаптивны и в основе их лежит «отбор частот» с колебаниями оптимально приспособляющими организм к новым условиям окружающей среды. Существующие в настоящее время механизмы регуляции околочасовых осцилляций могут быть: Н-ионными, тиольными, полиаминными и регуляция через уровень

ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозоле. Околочасовые биоритмы лежат в основе циркадианных ритмов и являются ведущими в хронобиологической структуре организмов млекопитающих и человека. Околочасовые осцилляции необходимы для объективной оценки морфофункциональных состояний, как отдельных клеток, так и тканей в целом.

Анализируя литературные источники, можно подвести итог о том, что сведений о реакциях ультрадианных биоритмов уровня общего белка, альбумина и группы глобулинов в плазме крови, а так же уровня содержания общего белка и альбумина в тканях тимуса, лимфоузлов и селезенки крыс, как в норме, так и в условиях хронической ингаляции серосодержащим природным газом отсутствуют.

Между тем, знания о реакциях околочасовых ритмов в тканях органов иммунной системы представляет, несомненно, и теоретический, и практический интерес, учитывая их ведущую роль в поддержании гомеостаза и адаптации к работе в условиях хронического стресса.

## 1.2 Некоторые аспекты физиологических изменений в органах иммунной системы

Уникальность иммунной системы определяется тем, что клетки, входящие в ее структуру, постоянно циркулируют в различных тканях и органах, поэтому она теснее остальных функциональных систем связана с другими системами организма.

Исследования последних лет утвердили представление о вилочковой железе, как о центральном органе иммунной системы и железе внутренней секреции. Тимус в общем звене выступает как регулятор и посредник с органами нервной, эндокринной и кроветворной системами, начиная от клеточного до органного уровня (Коркушко О.В. и др. 2002; Шатаева Л.К., Хавинсон В.Х., 2003; Хавинсон В.Х., Кветной И.М. и др., 2003). Он является первым лимфоидным образованием в эмбриогенезе, оказывая свое регулирующее влияние на деятельность иммунокомпетентных клеток, «обучая» стволовые клетки и выделяя гормоны, которые завершают начатый им процесс в периферических органах (Пальцев М.А., Кветной И.М., 2008; Шарова Н.И., 2011; Ярилин А.А. и др., 2012; Chen P., 2013; Anderson G., 2014). Процессы, протекающие в тимусе, генетически детерминированы, обусловлены метаболизмом, отличаются динамичностью, создают оптимальный баланс популяций лимфоцитов путем воздействия факторов микроокружения, создаваемых элементами стромы тимуса (Хавинсон В.Х., Коновалов С.С., 2009; Куклина Е.М., 2013; Janossy G. et al., 1986; Abe R. et al., 2001; Alexandropoulos K., 2012; Roberts N. et al., 2014). Все эти процессы регулируются гормоноподобными веществами, синтезируемыми в вилочковой железе, протекают в реальном режиме времени и синхронизированы с факторами внешней среды (Miller J. F. A. P., 2002; Csaba G., 2016). В настоящее время известно, что некоторые медиаторы иммунной системы влияют на нормальную функцию биоритмов (Anisimov V.N. et al., 2010). Нарушение синхронизации организма вызывает иммунный ответ,

индуцирующий экспрессию провоспалительных медиаторов, что в свою очередь вызывает дальнейшее изменение биологических часов. Таким образом, нарушается биоритм митохондриальной функции, что приводит к биоэнергетическому распаду и образованию АФК, которые, в свою очередь, активируют воспаление. Введение иммуномодуляторов (например, мелатонина) приводит к восстановлению биоритмов, что сопровождается нормализацией иммунитета и митохондриального гомеостаза (Calamita P. et al., 2018; Caputi S. et al., 2019).

Тимус как первичный орган иммунной системы чрезвычайно чувствителен к различным внешним и внутренним воздействиям (Киселева Е.П., 2004; Донецкова А.Д., 2013; Москвичев Е.В., 2013; Старская И.С. и др., 2013; Комелькова М.В., 2015; Косырева А.М. и др., 2019). Возрастные изменения тимуса играют ключевую роль в ослаблении системы клеточного и гуморального иммунитета у лиц пожилого и старческого возраста (Харченко В.П., 1998; Кветной И.М. и др., 2005; Полякова В.О., 2007; Федорова Е.С., 2009), в процессе адаптации к физическим нагрузкам (Ткачук М.Г. и др., 2001, 2004), а так же в формировании злокачественных новообразований (Драндрова Е.Г. и др., 2015; Стручко Г.Ю. и др., 2018). В эксперименте Г.Ю. Стручко с соавторами (2018) доказано, что при канцерогенезе индуцируется выброс из вилочковой железы незрелых Т-лимфоцитов, которые направляясь в очаг злокачественного роста, способствуют усилению активности роста, как самих опухолевых клеток, так и сосудов, путем продукции фактора роста эндотелия.

При воздействии стрессорных факторов, в том числе токсических на иммунную систему (Дюсембаева А.Т., 2008; Стручко Г.Ю. и др., 2014; Родзаевская Е.Б. и др., 2017; Ваш И.Ю., 2019; Наумов А.В. и др., 2020), у детей и подростков уже может наблюдаться инволюция тимуса, приводящая к ускоренному старению (Полякова В.О., Кветной И.М., 2004). Так, в эксперименте на животных И.Б. Ваш (2019) доказал, что ингаляционное воздействие формальдегида вызывает структурные изменения тимуса и

увеличение количества апоптотических тел, что проявляется картиной «звездного неба».

Освобождая внутреннюю среду организма от избытка воды, белков, жиров, бактерий, продуктов распада клеток, постоянно пополняя запасы лимфоцитов и иммуноцитов, не только тимус, но и лимфатические узлы принимают активное участие в поддержании гомеостаза (Сапин М. Р., 2012).

В условиях токсического воздействия на организм крыс в эксперименте, ряд авторов (Бородин Ю.И. и др., 2016; Умбетов Т.Ж., 2018) отмечают поражение сосудистой системы регионарных лимфатических узлов, принимающих участие в активации детоксикации организма в целом. Так, Т.Ж. Умбетов с соавторами (2018) указывает на усиление иммунного напряжения в функциональных зонах паренхимы лимфоузлов крыс. Доказанное при этом возрастание площади стромальных элементов (капсулы), автор объясняет возрастом животных (в контроле), а также сроками токсического воздействия. Данные Q.Q. Ни с соавторами (2014) также подтверждают об увеличении функциональных зон лимфатических узлов ответственных за клеточный и гуморальный иммунитет на воздействие токсического вещества.

Л.Б. Гилязова с соавторами (2010), П.К. Конторщиков с соавторами (2010), Е.А. Иванова (2010) указывают, что к действию повреждающих факторов наиболее подвержены структуры лимфатических узлов с максимальными функциональными нагрузками, при этом ответная реакция может сопровождаться как изменением плотности расположения иммунокомпетентных клеток, так и изменением площадей герменативных центров лимфоидных узелков и мозговых тяжей.

Согласно данным Н.К. Тухтаева с соавторами (2010) при развитии токсического стресса, вызванного хронической интоксикацией пестицидами, появляются деструктивных изменения не только в лимфатических узлах, но и в селезенке, при этом исследователи зарегистрировали увеличение в 2-3 раза уровня апоптоза в тканях этих органов.



П.Г. Магомедовой и М.В. Абрамовой (2010) в ходе эксперимента доказано, что после воздействия формальдегидом лимфоидная ткань селезенки крыс более чувствительна к экзотоксиканту, чем ретикулярная. Как утверждают авторы, на 14 сутки после химической интоксикации в органе сохраняется сосудистая реакция, лимфоциты теряют компактность своего расположения, снижается митотическая активность в фолликулах селезенки.

Таким образом, в большинстве работ, посвящённых изучению тимуса, лимфатических узлов и селезенки, приводятся особенности строения органов без учёта возрастной и вариантной морфологии. Это обстоятельство может явиться причиной не вполне объективной оценки данных, полученных в процессе экспериментальных исследований органов иммунной системы.

Малоизученным остается вопрос о возрастных и тканеспецифических особенностях реакций тимуса, лимфатических узлов и селезенки в условиях гипоксии, индуцированной воздействием серосодержащим природным газом, а так же о динамике процессов свободно-радикального окисления обусловленных стрессом, что и явилось предметом изучения в данном исследовании.

### 1.3. Свободнорадикальные процессы и окислительный стресс

В 50-60 годах прошлого столетия Б.Н. Тарусовым (1957) была разработана концепция о формировании свободнорадикальной патологии, основой которой являлось усиление процессов свободнорадикального окисления. В дальнейшем группой ученых была представлена теория цепного радикального окисления органических молекул, которая оказалась применимой для окисления структур клеточных мембран (Журавлев А.И., 1982; Владимиров Ю.А., 1987; Дюмаев К.М., 1995; Сорокина Н.В. и др., 1997; Sohal R.S. et al., 2012; Go Y.M. et al., 2017; Koltover V.K., 2017).

В настоящее время широко используется понятие «активированные кислородные метаболиты» (АКМ), объединяющие в обширный класс кислородные соединения радикальной и нерадикальной природы:  $O_2^-$ ,  $^1O_2$ ,  $H_2O_2$ ,  $HO^\cdot$ ,  $RO_2^\cdot$  и др.

В аэробных условиях существования во всех живых организмах постоянно протекают реакции с образованием активированных кислородных метаболитов (Осипов А.Н., 1990; Меньщикова Е.Б. и др., 2006; Теплый Д.Л., 2011; Чернышева М.П., 2016). Высокая агрессивность молекулярного кислорода в отношении органических радикалов лежит в основе развития цепных процессов свободнорадикального окисления. АКМ являются высокореакционными частицами, радиус действия которых определяется скоростью их диффузии, временем жизни, а также присутствием антиоксидантов в тканях (СОД, витамин Е и др.) (Дубинина Е.Е., 2006).

Многочисленными исследованиями было установлено, что кислородные радикалы являются ключевыми элементами регуляции многих физиологических процессов на всех уровнях организации живого, начиная от регуляции активности внутриклеточных ферментов до нервной регуляции сократительной функции желудка, внешнего дыхания, поддержания тонуса сосудов (Babior V.M. et al., 1973, Inomata K. et al., 1984, Rubanyi S.M., 1988; Moncada S. et al., 1991; Marsault R. 1992; Tawa M. et al., 2011). АКМ

осуществляют регуляцию пролиферации клеток (Fidelius R.K., 1988; Kovij A. et al., 1992), индуцируют транскрипцию определенных генов (Burdon R.H., 1992).

Свободные радикалы и перекрестные производные являются обычными промежуточными продуктами многих ферментативных реакций (Ren J.C. et al., 2010). Они образуются, в частности, при окислительном дезаминировании серотонина и дофамина, биосинтезе простагландинов, функционировании лизосом и пероксисом (Голиков С.Н. и др., 1986; Маянская Н.Н. и др., 1990). Продукты ферментативного ПОЛ - липоперекиси имеют большое значение для организма, участвуя в фаго- и пиноцитозе, регуляции проницаемости мембраны, в метаболической активации иммунцитов и в дифференцировке клеток (Садовникова И.П., 1986). Циклические эндоперекиси участвуют в синтезе простагландинов, тромбоксанов и простаглицлина (Чернов Ю.Н. и др., 1992; Berry E.M., 1992). Продукты окисления арахидоновой кислоты - 5-, 12- и 15 гидроперекиси арахидонита проявляют сосудорасширяющие и антиагрегационные свойства (Moncada S. et al., 1991; Tawa M. et al., 2011).

По данным Т.Д. Журавлевой с соавторами (2003) из липо- и дигидроперекисей при участии липооксигеназ образуются первичные: диеновые конъюгаты, а так же конечные продукты ПОЛ: малоновый диальдегид и основания Шиффа. Именно эти соединения ответственны за формирования ответных иммунных и воспалительных реакций (Ланкин В.З. и др., 1998, 2001; Kasama T. et al., 1989).

По литературным данным процессы свободнорадикального окисления условно подразделяют на 3 последовательных этапа, или фазы развития: процесс зарождения цепей, развитие цепных реакций и обрыв цепей (Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б., 2004). Образование первичных радикальных соединений типа  $R^{\cdot}$  (зарождение цепей) происходит при воздействии экзогенных факторов физической или химической природы: ионизирующей радиации, ультрафиолетового излучения, обмена

ксенобиотиков (Cross A.R. et al., 1991; Pronai L. et al., 1991; Sinha J. et al., 2001). В результате активизации ферментативных радикалгенерирующих систем формируются эндогенные радикалы инициирующие окисление такие как: НАД(Ф)Н-оксидаза, ксантинооксидаза, митохондриальная цитохромоксидаза, N0- синтетаза (Cadenas E. et al., 2000; Sohal R.S. et al., 2012; Меньшикова Е.Б. и др., 2008). При этом, образующиеся в энзиматических реакциях: пероксиды водорода, монооксиды азота, супероксидные анион-радикалы не могут самостоятельно индуцировать процессы ПОЛ, так как малоактивны. Но, в последовательных реакциях при участии ряда ферментов и ионов металлов переменной валентности они способны дать начало формированию высокореакционных гидроксильных радикалов (ОН<sup>•</sup>), гипогалогенным кислотам (НОСl, НОВг), синглетного кислорода, активным формам азота. В аэробной среде такие радикалы обладают энергией достаточной для взаимодействия с молекулярными формами кислорода с образованием пероксидных радикалов (R0<sub>2</sub>'<sup>•</sup>) (Pryor W.A. et al., 2006). Они атакуя молекулы липидов приводят к возникновению гидропероксидов ROOH и новых радикалов, которые принимают участие в цепной реакции. Радикалы R0<sub>2</sub>'<sup>•</sup> и RO'<sup>•</sup>, обладая высокой токсичностью в отношении любых типов клеток и тканей, оказывают повреждающее действие на белки, инактивируют ферменты, вызывают повреждение нуклеиновых кислот (Зенков Н.К., 2003, 2020; Cadet J. et al., 2003; Cortina-Puig M. et al., 2011). Кроме того, они индуцируют образование органических радикалов (Comporti M., 1985) и таким образом запускают образование ПОЛ (Сидорик Е.П. и др., 1989; Spiteller G., 2005).

Такие авторы, как А.И. Журавлев (1982), А.М. Кузин (1987) считают, что продукты ПОЛ регулируют проницаемость липидного состава мембран, контролируют процессы размножения клеток, ингибируя синтеза ДНК в их мембранных структурах.

В биомембранах окислениям подвергаются в основном жирные полиненасыщенные кислоты, которые входят в структурные части

фосфолипидов (Dix T.A., Aikens J., 2005). При участии свободных радикалов  $O_2^-$  на стадии инициации, либо под влиянием ионизирующей радиации, ультрафиолета или ряда химических веществ, может произойти отрывы атомов водорода в альфа-положениях по отношению к двойным связям. При этом ослабевают связи С-Н в смежных углеродных атомах, облегчая в результате отщепление атомов водорода. Чем больше ненасыщенная боковая цепь жирных кислот, тем выше вероятность подвергнуться липидному окислению (Хавинсон В.Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В., 2003). Радикалы, имеющие углерод в центре тоже претерпевают молекулярную перестройку с образованием диенов, содержащих сопряженные двойные связи. Они присоединяя  $O_2^-$ , формируют радикалы пероксидов, способных отделять атомы водорода от других жирных кислот. Появление органических перекисей в результате таких реакций и образование новых радикалов приобретает цепной характер и способствует продолжению окислительной реакции (Gavino V.C. et al., 1981; Владимиров Ю.А. и др., 2000; Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньшикова Е.Б., 2004; Меньшикова Е.Б. и др., 2006). Так, например, сформированные новые радикалы  $O_2^-$ , являются нуклеофильными соединениями, поэтому могут окислять липопротеиды в мембранах (Шаронов Б.П. и др., 1988), способствуя нарушениям проницаемости для ионов и приводя к необратимым изменениям мембранных структур. В дальнейшем, по данным J. Kalra et al. (1990), K. Samukawa et al. (2008) этот процесс может приводить, например, к разрушению эритроцитов, выходу лизосомальных ферментов, изменению реологических показателей.

Большинство аминокислот и состоящие из них белки так же могут окисляться в ответ на воздействие АКМ. Этот процесс обратим, в связи с этим его рассматривают как защитный механизм. Так, по результатам исследования E. Shacter (2000) серосодержащие аминокислоты цистеин и метионин могут окисляться, образуя дисульфидные мостики. Затем, при ферментативных реакциях дисульфидные цистеиновые связи могут восстанавливаться, создавая защитные цепи преобразований, такие как:

«глутатионпероксидаза - глутатион – глутатионредуктаза», «тиоредоксин – тиоредоксинредуктаза», «пероксиредоксин — глутатион». При окислении, например, аминокислоты тирозина вовлекается ОН - группа, образуя характерные для нее продукты: 3-гидрокситирозин, 3-нитротирозин, дитирозин (Heinecke J.W., 2002). Увеличение концентрации именно дитирозина, по мнению С. Giulivi с соавторами (2003), может служить показателем развития окислительного стресса. Окисляются, по данным R. Chen et al. (2011), и другие аминокислотные остатки, что приводит при формировании межмолекулярных сшивок к денатурации и агрегации белковых молекул.

По результатам исследования T. Grune et al. (2003) образование внутри- и межпептидных сшивок, фрагментации белков, могут сопровождаться изменением структуры белковых молекул, повышением способности их к протеолизу и нарушением агрегационных свойств.

В работе Е.Б. Меньшиковой с соавторами (2006) отмечено, что у различных белков может быть не одинаковой и подверженность к окислению. Наибольшая устойчивость к окислению выражена у нативных белков. При высоком их уровне содержания в клетке и межклеточной жидкости, они противостоят повреждениям и усиливают антиоксидантную защиту.

Углеводы при воздействии АКМ также могут окисляться, при этом чаще происходит аутоокисление, в результате которого образуются карбонильные соединения, перекись водорода, гидроксильные радикалы (Yamagishi S. et al., 2008), подвергая тем самым, окисление других структур. Так как углеводы окисляются быстрее липидов и белков, то этот процесс наименее вредит организму.

Большую роль в организме человека пероксидация липидов играет в обновлении мембран клеток, что обеспечивает их функцию (Чернов Ю.Н. и др., 1992; Гацура В.В. и др., 1992) и структурный гомеостаз. В связи с этим, основу механизмов мембранотропных действий ПОЛ составляет коррекция

билипидного слоя путем регулировки обмена насыщенных и ненасыщенных фосфолипидов. Насыщенные фосфолипиды наиболее быстро подвержены окислениям, поэтому увеличение их количества в мембране способствует снижению ее проницаемости. В тоже время в гидрофобных слоях мембран появляются «поры» за счет скопления полярных продуктов окисления, которые увеличивают проницаемость для водорастворимых молекул и ионов (Владимиров Ю.А. и др., 1987), это, в свою очередь, оказывает влияние на рецепцию и функционирование белков, образующих каналы (Winterboum С.С., 2008). Формирование диеновых конъюгатов и накопление производных с альдегидными группами могут нарушать в структуре мембран сбалансированный процесс. Эти соединения, являясь высоко реакционноспособными, взаимодействуют с аминокислотными остатками гистидина, лизина и цистеина в составе белков, вызывая нарушения в структуре ферментов, приводя к инактивации этих соединений (Uchida К., 2003).

В связи с этим, для реализации физиологических процессов на определенном сбалансированном уровне концентрация липоперекисей должна поддерживается на уровне  $10^{-7} - 10^{-8}$  моль на 1 г липидов ткани (Мажуль Л.М. и др., 1990, Murphy J.K. et al., 1995).

Таким образом, разные по своим свойствам антиоксидантные системы необходимы для поддержания процессов ПОЛ на стационарном уровне в условиях измененной активности образованных радикалов (Журавлев А.И., 1982; Зборовская И.А. и др., 1995; Pani G. et al., 2004; Yoo J.H. et al., 2009; Bast A. et al., 2010).

При интенсивном воздействии на организм экзогенных химических или физических факторов (радиация, ультрафиолет, загрязнители воздуха, шум, интоксикация, гипоксия, гипотермия) процессы ПОЛ многократно усиливаются, генерация активных форм кислорода возрастает (Даценко И.И., 1988; Губанова Е. И., 2001; Галоян А.А. и др., 2003; Жданов Г. Г. и др., 1995; Виноградов, А.Ю., 2000; Селиванова Е.И. и др., 2010; Мейланов И.С. и др.,

2010; Лукьянова Л.Д., 2011; Абиева Э.Ш., 2016; Loguercio C., 2003; Zheng X. et al., 2011).

В многочисленных публикациях (Тодоров И.Н., 2003; Нестеров Ю.В. и др., 2003, 2016; Курьянова Е.В. и др., 2009; Богданов Г.Н., 2010; Мажитова М.В., 2012) показано, что усиление ПОЛ в организме является составной частью общего адаптационного синдрома, независимо от природы вызывающего его фактора. Конечным результатом процесса адаптации организма становится либо приспособление к новым условиям окружающей среды, либо срыв адаптивных механизмов (Курзанов А.Н. и др., 2016). Вследствие этого может развиваться патологическое состояние, определяемое как окислительный стресс, который может проявляться как на клеточном и тканевом, так и на организменном уровнях организации. При этом, усиление перекисного окисления липидов, чрезмерная продукция органических перекисей приводят к развитию патологических процессов, связанных с нарушением функции биологических барьеров (Козлов Ю.П., 1975; Воскресенский О.Н. и др., 1992; Кондратенко Е.И. с соавторами, 2004; Барабой В.А., с соавторами, 2004; Теплый Д.Л., Аюпова Н.А., 2005; Теплый, Д.Л., 2008; Меньшикова Е.Б. и др., 2008; Terpy D.L., 2010).

В процессе эволюционного развития в живых организмах сформировались специализированные ферментативные системы способные к восстановлению молекулярного кислорода. Так, АКМ образуются в реакциях с оксидазами, переносящими один или два электрона на молекулярный кислород с образованием  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ , а так же в реакциях с ферментами, образующими кислородные радикалы  $OH^\cdot$ ,  $NO$ ,  $RO^\cdot$  и др. (Дубинина Е.Е., 2006; Gorsky L.D. et al., 1984). Выделение  $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ , и  $OH^\cdot$ , происходит при работе очищенной NO-синтетазы (Pou S., et al., 1992), которая при недостатке L-аргинина окисляет НАДФН с образованием  $O_2^-$  без продукции NO-радикалов (Groemping Y. et al., 2004, Bayir H. et al., 2007).

Ксантинооксидаза может тоже выступать источником  $O_2^-$  и  $H_2O_2$ ,  $OH^\cdot$  (Harrison R., 2002), а по данным Т. Nagano (1991) и синглетного кислорода.



Jansen E.H.J.M. et al. (1989), Aust S.D. et al., (1982) считают, что генерация АКМ ксантинооксидазой необходима для обмена железа. Так, Telci A. et al. (2000), Nagababu E. et al. (2004), Winterbourn C.C. (2008) описали образование  $O_2^-$  при переходе оксигемоглобина в метгемоглобин.

Установлено, что  $O_2^-$  выделяющийся в ходе ксантинооксидазной реакции, ингибирует  $Ca^{2+}$ -АТФазу саркоплазматического ретикулула гладкомышечных клеток сосудов, которая крайне чувствительна к действию АКМ. В результате ее повреждения нарушается транспорт ионов  $Ca^{2+}$  через мембрану, что ингибирует действие эндотелиального фактора расслабления (Bast A. et al., 2010) и белка в эндотелиальных клетках (Junod A.F., 1987). В результате эти процессы являются одной из причин повреждения сосудов при различных патологиях (Трубачева О.А. и др., 2012; Suzuki Y.I. et al., 1991).

Нарушение функции митохондриальной цитохром с-оксидазы ингибирует перенос электронов в дыхательной цепи, что может служить достаточно эффективным источником активного радикала  $O_2^-$ , который способствует энергетическому дисбалансу в митохондриях и развитию окислительного стресса (Лукьянова Л.Д., 2011; Fromenty B., 1997; Cadenas E., 2000; Brooks P.S. et al., 2006; Jones D.P., 2008; Rutter G. et al., 2010; Sohal R.S., 2012; Wong H.S. et al., 2017; Giorgi C. et al., 2018; Son J.M. et al., 2019), а в дальнейшем, может индуцировать канцерогенез и старение организма (Анисимов В.Н., 2000, 2008; Кольтовер В.К., 2010; Lennon S.V. et al., 1991; Harman D., 2006; Alcaraz M. et al., 2009; Yusnita Y. et al., 2010; Теплый Д.Л., 2016; Koltover V.K., 2017).

Клетки млекопитающих достаточно устойчивы к воздействию перекиси водорода благодаря появлению в процессе эволюции таких ферментных систем, как глутатионпероксидаза и каталаза. Первая из них эффективна при малых концентрациях перекиси, вторая проявляет активность при высоких концентрациях (Eaton J.W., 1991).

Увеличение количества  $H_2O_2$  вызывает цитотоксическое действие,

способствуя гибели таких клеток, как - фибробласты, гепатоциты, клеток эндотелия (Зенков Н.К., 2001, Noh S.J. et al., 2011). Перекись водорода может являться источником образования гидроксильного радикала  $\text{OH}^\cdot$  (Биленко М.В., 1989), который из всех АКМ является наиболее реакционноспособным. Он может разрывать любую связь С-С или С-Н. Время его жизни в биологических субстратах невелико, за счет высокой скорости взаимодействия  $\text{OH}^\cdot$  с большинством органических соединений (Зенков Н.К., 2004, 2020; Cheuhg K. et al., 1984; Liu K.J. et al., 1997).

Однако, организм может использовать возможность генерации АКМ в защитных реакциях. Так, например, увеличение концентрации  $\text{H}_2\text{O}_2$  в очаге воспаления приводит к закислению среды в фагосомах (Lomax K.J. et al., 1989), что обуславливает гибель некоторых штаммов бактерий (Максимов И.В. и др., 2010).

На протяжении всего эволюционного процесса (Захарова Л.А., 2009) в организмах вырабатывались защитные механизмы от воздействия активных кислородных метаболитов на всех уровнях организации живой материи. В настоящее время защитными свойствами обладают ферментативные и неферментативные антиоксиданты, позволяющие сохранять в организме оптимальный уровень свободных радикалов.

Уровень внутриклеточных ферментных антиоксидантов генетически контролируется. Так, на примере бактерий, доказано, что повышение внутриклеточной концентрации  $\text{O}_2^\cdot$  или  $\text{H}_2\text{O}_2$  сопровождается активацией транскрипции генов *soxR-soxS*- или *oxyR-oxyS*-областей ДНК, которые, в свою очередь, контролируются, факторами регуляции *SoxR*, *SoxS* и *OxyR* (Mongkolsuk S. et al., 2002; Zahrt T.C. et al., 2002; Faulkner M.J. et al., 2011).

Н. Sies (1991) высказал предположение, что такой же тип регуляции характерен для эукариот. У млекопитающих экспрессия антиоксидантных ферментов клетками первично регулируется как часть координированного тканевого ответа, управляемого цитокинами, а не прямым действием

прооксидантов на отдельные клетки (Stralin P. et al., 2000; Rea I.M. et al., 2018).

Особую роль в защите клетки от окислительного повреждения играют пероксисомы, т.к. в этих клеточных компонентах локализуются четыре ферментативных антиоксиданта: Cu, Zn-СОД и Mn-СОД (Borges-Alvarez M. et al., 2010), каталаза и глутатионпероксидаза (Speckmann B. et al., 2011). Многие из перечисленных ферментативных антиоксидантов содержат определенные металлы: медь, цинк, марганец, железо, никель (Sies H., 1991, Weitzel F. et al., 1993; Sen S.K. et al., 1994), играющие особую роль в защите содержимого клеток от окислительного повреждения (Nordgren M. et al., 2014; Fransen M. et al., 2018; Walker C.L. et al., 2018).

T. Kobayashi с соавторами (1993) доказали, что большая часть фермента СОД содержится в цитоплазме, межмембранном пространстве митохондрий и на поверхности пероксисом. Секреция этого фермента осуществляется практически всеми клетками организма. Так, максимальное ее количество обнаружено в печени, коре почек, надпочечниках и селезенке (Antonyuk S.V. et al., 2009), в меньшей концентрации находится в фибробластах (Adachi T. et al., 2001), в легочных макрофагах (Manni M.L. et al., 2011). Именно этот фермент может реагировать с  $H_2O_2$  в щелочной среде (Fridovich I., 2011, MacMillan-Crow L.A. et al., 2011), а так же может способствовать ускорению реакции дисмутации супероксид-аниона (Liochev S.I. et al., 2010). Опосредованно в ходе ферментативной реакции СОД не дает возможности  $O_2^-$  реагировать с NO-радикалом (Марков Х.М., 2005). В свою очередь, именно при участии изоформы – (Э-СОД) происходит поддержание NO на определенном уровне (Koltover V.K., 2017), что необходимо для сохранения целостности стенок сосудистого русла (Iida S. et al., 2006; Brahmajothi M. V. et al., 2007).

S. Melov (2002) исследовал необходимость присутствия фермента Mn-СОД в организме млекопитающих. В ходе эксперимента на мышах с выключенной Mn-СОД, автор регистрировал гибель животных вскоре после

рождения. Причиной смерти были нейродегенеративные изменения, развитие дилатационной кардиомиопатии и ацидоза.

Ряд авторов Meneghini R., Benfato M.S., Bertoncini C.R. (1995) в результате экспериментов сделали вывод, что избыток СОД может путем обратной регуляции ингибировать синтез каталазы и глутатионпероксидазы. В результате клетки становятся уязвимыми к окислительной атаке.

F. Johnson с соавторами (2009) в экспериментах на крысах установили, что недостаток Mn, Cu и Zn в рационе питания способствует снижению активности СОД в печени в 8 раз; в селезенке, почках и сердце в 3,8 раза и на 86% уменьшается активность СОД в эритроцитах.

Другой фермент – каталаза, в клетках организма млекопитающих препятствует накоплению перекиси водорода, предотвращая ее повреждающее действие на клеточные компоненты. До 80% каталазы локализовано в пероксисомах (Биленко М.В., 1989) и ее активность в 10 000 раз выше пероксидазной. Максимальное содержание этого фермента обнаружено в эритроцитах, а также в печени и почках, а концентрация ее в мозге, щитовидной железе, половых железах и соединительной ткани мала (Абрамова Ж.И. и др., 1985).

По данным Н.В. Шинкаренко с соавторами (1982) каталаза может выступать и в качестве прооксиданта, т.к. около 0,5% кислорода, образующегося в результате разложения  $H_2O_2$ , находится в возбужденном синглетном состоянии. При гипероксии после физических нагрузок в митохондриях нейронов коры головного мозга зафиксировано снижение ее концентрации (Ho Y.S. et al., 2004), но ряд авторов отмечали повышение содержания каталазы в сыворотке крови при ревматоидном артрите (Tetik S. et al., 2010) и остром респираторном дистресс-синдроме (Ward P.A., 2010), что, вероятно, служит защитой от окисления некоторых молекул и структур.

Lock R. с соавторами (1988) установили, что по своим химическим свойствам каталаза обладает длительной ферментативной активностью, с

низкой энергией активации катализируемой реакции, но из-за большой молекулярной массы она плохо проникает внутрь клеток, а во внеклеточных жидкостях в результате реакций с протеолитическими ферментами, быстро теряет активность. Эти данные подтверждают и H.N. Kirkman, M. Rolfo с соавторами (1999). Низкая проницаемость мембран для каталазы и ее подверженность действию протеолитических ферментов ограничивают фармакологическое применение фермента (Меньшикова Е.Б. и др., 2006). В литературе имеются данные о том, что совместное применение каталазы и супероксиддисмутазы защищает клетки от окислительного стресса активнее, чем каждый из этих антиоксидантов в отдельности (Jeroudi M.O., Triana F.J. et al., 1990; Поберезкина Н.Б., 1989).

Подобно каталазе, глутатионпероксидаза способна так же утилизировать перекись водорода (Conrad M. et al., 2007), катализируя реакцию восстановления глутатионом нестойких органических гидропероксидов до оксикислот. Селенсодержащие изоформы глутатионпероксидазы восстанавливают пероксинитрит до нитрит-аниона, тем самым предотвращая реакции окисления и нитрования, протекающие с участием пероксинитрита (Förstermann U., 2010).

При недостатке селена в рационе питания уровень глутатионпероксидазы снижается, что приводит к потере устойчивости организмов к окислительному стрессу (Ortas E. et al., 2006).

В процессе эволюции появились неферментативные антиоксиданты, обладающие защитными свойствами и позволяющие сохранять в организме оптимальный уровень свободных радикалов во всех водных и липидных фазах внеклеточной среды. Это действие антиоксидантной системы связано с большой группой низко- и высокомолекулярных химических соединений. По данным Т. Finkel с соавторами (2000) к высокомолекулярным соединениям, проявляющим неферментативную антиоксидантную активность относятся: церулоплазмин, трансферрин, альбумины плазмы, гистоны, гамма-глобулины, липопротеины высокой плотности и др.; а к низкомолекулярным

- токоферолы, аскорбат, пируват, убихинон, каратиноиды и глутатион.

В антиоксидантной защите жидких сред организма важную роль выполняют белки плазмы крови (альбумин, трансферрин, церулоплазмин, лактоферин). По данным И.В. Сорокиной с соавторами (1997) и J. Gutteridge (1995) антиоксидантные свойства этих соединений определяются их способностью связывать металлы переменной валентности, что, в свою очередь, подавляет синтез радикалов и снижает выраженность перекисного окисления липидов.

В настоящее время группа жирорастворимых антиоксидантов представлена токоферолами (витамин Е), ретинолом (витамин А) и каратиноидами. К водорастворимым антиоксидантам относят большую группу соединений разного химического строения: аскорбиновая кислота (Singh S. et al., 2010), мочевиная кислота, некоторые аминокислоты и др. (Сурай П.Ф. и др., 1998; Агуома О.И., 1998). Среди перечисленных соединений имеются фенольные антиоксиданты – витамин Е, убихинолы, пигменты растительного и животного происхождения (Герасимова Е.Л. и др., 2010), которые эффективно взаимодействуют с гидроперекисными радикалами жирных кислот и насыщенных липидов (Барабой В.А, 2004). Фенольные соединения антиоксидантов могут, как восстанавливаться, так и окисляться, поэтому обладают и прооксидантными свойствами (Barcelos I.P., 2019; Takahashi M. et al., 2019).

Основной представитель липидных антиоксидантов –  $\alpha$ -токоферол – является универсальным протектором всех клеточных мембран независимо от типа ткани.

В живых организмах токоферол оказывает физиологическое воздействие и выступает в качестве биологического ингибитора окисления. Считается, что  $\alpha$ -токоферол способен обезвредить не менее 60% образующихся в организме пероксильных радикалов (Ouchi A. et al., 2009). В качестве прооксиданта  $\alpha$ -токоферол может выступать при индуцированном ионами железа или меди окислении липосом, окислении липопротеинов

низкой плотности из сыворотки крови человека в присутствии ионов меди или в отсутствие аскорбата (Jomova K. et al., 2011).

Для фармакологического применения витамин Е выпускается в виде токоферола-ацетата, который в модельных экспериментальных системах не проявляет антиоксидантных свойств, но попадая в живой организм, он быстро гидролизуется и переходит в биологически активную форму  $\alpha$ -токоферола. Необычные формы  $\alpha$ -токоферола выделены из икры кеты, получившего название «морской токоферол» (Yamamoto Y., Fujisawa A. et al., 2001).

Многочисленные эксперименты *in vivo* подтверждают, что натуральный витамин Е в 2 раза эффективнее синтетического, содержащего смесь стереоизомеров (Зенков Н.К., Кандалинцева Н.В., Ланкин В.З., 2003; Меньшикова Е.Б. и др., 2006).

По данным И.В. Кузьменко (1993) физиологическое действие производных токоферолов ослабевает в последовательности:  $\alpha$ -токоферол,  $\beta$ -токоферол,  $\gamma$ -токоферол,  $\delta$ -токоферол, но антиокислительное действие имеет обратную зависимость. Фенольные формы токоферолов являются устойчивыми, что дает им преимущество перед другими природными антиоксидантами. Биологическая активность токоферолов зависит от их конформации, от числа металльных групп хроманового кольца, степени насыщенности боковой цепи (Надиров Н.К., 1991; Зайцев, В.Г., 2003). Имея активную стабильную форму, токоферолы могут регулировать скорость окисления липидов мембран (Бурлакова Е.Б., Храпова Н.Г., 1989). При этом существуют механизмы, обеспечивающие избирательную встраиваемость, например,  $\alpha$ -токоферола в биологические мембраны. Так, согласно данным Н. Sakami с соавторами (1997), И.В. Кузьменко с соавторами (1994), Е.Б. Бурлаковой с соавторами (1990), было установлено, что молекула токоферола стабилизирует мембрану, благодаря специфическому взаимодействию между его углеводородным радикалом и жирнокислотными цепями фосфолипидов биологических мембран.

Благодаря многочисленным исследованиям стало известно, что колебания содержания токоферола как в сторону снижения, так и в сторону увеличения приводят к дестабилизации клеточных мембран (Иванов И.И., 1978; Франциянц Е.М. и др., 1995; Куперман Ю.В., 1999; Флеров М.А., 2000; Теплый Д.Л., Горден М.В., 2004; Котельников А.В., Теплый Д.Л., 2005; Теплый Д.Л., 2008; Terly D.L., 2010).

По данным В.И. Киясовой с соавторами (1986) витамин Е усиливает резистентность клеточных мембран в условиях экспериментальной гемолитической и постгеморрагической анемии, значительно снижая число альтерированных клеток, как красного, так и белого ростка крови. В работе Е.С. Дреминой с соавторами (1993) подтверждаются данные об активном участии токоферола в антиокислительной защите липопротеинов сыворотки крови, где он ингибирует до 60% активных радикалов.

В связи с проявлением  $\alpha$ -токоферолом в различных ситуациях как антиоксидантных, так и прооксидантных свойств - это позволяет рассматривать его как регуляторное соединение, поддерживающее окислительно-восстановительный гомеостаз в стационарном состоянии (Зенков Н.К. и др., 2003). Так, в результате многочисленных исследований было доказано, что предварительное введение токоферола оказывает нормализующее действие на процессы ПОЛ после  $\gamma$ -облучения (Нейфах Е.А., 2003; Alcaraz M. et al., 2009), при гипотермии (Круглова О.Г. и др., 2011), при заболеваниях сердца (Голиков А.П. и др., 2003), при церебральной патологии (Каинова Г.М., 1990; Ерин А.Н. и др., 1994; Данилова Е.И., 1994; Дюмаев К.П. и др., 1995; Зозуля Ю.Б. и др., 2000; Недзвецкий В.С. и др., 2005; Дубинина Е.Е. и др., 2007; Wilson J.X. 1997), при травмах в акушерстве (Абрамченко В.В., 2001), при стресс-индуцируемой реакции (Ломтева Н.А., 2003; Хужахметова Л.К. и др., 2016).

Установлено так же, что токоферол способен защищать клетки и ткань от повреждений, если происходит воздействие NO – радикалов (Burkart V., Grob-Eick A., Bellman K. et al., 2005). Так, согласно данным Г.Ю. Вицковой с



соавторами (2003) токоферол препятствует повышению уровня NO - радикалов, подавляет интенсивность ПОЛ, предотвращая тем самым развитие судорог.

Антиоксидантный статус организма в норме характеризуется динамическим равновесием между катализаторами свободнорадикальных процессов - прооксидантами и антиоксидантами, препятствующими перекисному окислению (Арутюнян А.В. и др., 2000).

Смещая равновесие в этой динамической системе в сторону увеличения уровня содержания последних, происходит формирование окислительного стресса, что способствует накоплению различных продуктов окисления: начальных, промежуточных и конечных. В условиях окислительного стресса накопившиеся АКМ способны нарушать белково-липидный состав мембран, что изменяет ее регуляторные функции и проницаемость мембран, разобщает окислительное фосфорилирование, подавляет гликолиз, ингибирует синтез белков и нуклеиновых кислот (Садовникова И.П., 1986; Воскресенский О.Н. и др., 1992).

По данным Е.Б. Меньшиковой с соавторами (2006) молекулы нуклеиновых кислот наиболее подвержены воздействиям АКМ, при этом главным повреждающим агентом является радикал  $OH^\cdot$ , непосредственно взаимодействующий с дезоксирибозой, пуриновыми и пиримидиновыми основаниями.

Ф.М. Yakes с соавторами (1997) экспериментально доказали, что в культурах вирус - трансформированных фибробластов, предварительно обработанных перекисью в течении 60 минут, в наибольшей степени подвергаются окислительной деструкции митохондриальные ДНК, а не ядерная ДНК. При этом исследователи установили, что через 1,5 часа повреждения в ядерных фрагментах полностью устранялись, а в митохондриальной ДНК не наблюдалось восстановления.

Развитие окислительного стресса при гипероксии в клетках, по утверждению S. Kanvah с соавторами (2005), сопровождается нарушением в

синтезе нуклеиновых кислот. Увеличение скоростей включения меченого  $^3\text{H}$ -тимидина в ДНК или  $^3\text{H}$ -фенилаланина в белковые молекулы может послужить неспецифическим показателем повреждения в клетке.

Одним из важных адаптационных механизмов организма к воздействию факторов внешней среды, техногенного характера является состояние системы (ПОЛ - АОЗ), т.е. перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита. В настоящее время исследования показывают, что прооксидантными свойствами могут обладать большинство ксенобиотиков (Забродин З.В. с соавторами, 1993; Теплый Д. Л. с соавторами, 2004). При активации системы ПОЛ, изменяется баланс между образованием и разрушением перекисей, который способствует избыточному накоплению токсичных свободных радикалов в плазме крови, что и является в результате важной составной частью патогенеза негативных состояний, а в частности ухудшением реологии крови (Кондратенко Е.И. с соавторами, 2004; Мищенко Т.М. и др., 2005).

Исследования показали, что изменения процессов перекисного окисления липидов обуславливают дефицит энергетических потребностей и тканевой гипоксии эндотелия вследствие снижения утилизации кислорода. Кроме того, активация перекисного окисления липидов приводит к искажению информации от внеклеточных регуляторов к внутриклеточным эффекторным системам, к нарушению адаптационных способностей клеток микроциркуляторного русла (Владимиров Ю.А. с соавторами, 1998, 2000).

С момента раскрытия механизмов ПОЛ липоперекиси связывают с повреждающим действием на клетку, и это позволяет полагать, что ПОЛ является одним из основных механизмов мембранной патологии (Akerboom T., Gather M., Sies H., 1981; Halliwell B., Gutteridge J.M.C., 1999; Стефани Д.В., Зернов И.И., 1984; Никифорова Н.В., с соавторами, 2001; Шанин Ю.Н. и др., 2003). В связи с этим, в последние годы наблюдается значительный интерес к исследованию ПОЛ при различных патологических состояниях (Rabinowitch

H.D., Fridovich L., 1983; Togashi H. et al., 1992; Куклей М.Л. и др., 1994; Перковская А.Ф. с соавторами, 1998).

Многообразие патогенных факторов, вызывающих усиление процессов ПОЛ, и широкий спектр повреждающего действия его продуктов определяют место и значение этого процесса в механизмах неспецифических реакций организма на внешнее воздействие. По мнению Ф.З. Меерсона (1988), активация ПОЛ составляет общее звено стрессорных повреждений. Многочисленные исследования последних десятилетий подтвердили усиление свободнорадикального окисления при действии различных стрессорных факторов (Баринов В.А., 1996; Маеда Х., 1998; Фатеева Н.М., 2001; Сейдахметова З.Ж., 2001; Барабой В.А. и др., 2004; Логинов П.В., 2013; Нестеров Ю.В., 2016).

Наступление декомпенсации обусловлено, с одной стороны, разрушающим действием продуктов ПОЛ на мембраны клеток, с другой - токсическим влиянием веществ, загрязняющих атмосферный воздух, которые в свою очередь усиливают процессы ПОЛ. На основании этих исследований был сделан вывод о возможности использования параметров АОЗ в качестве критериев оценки состояния защитно-приспособительной системы организма (Боев В.М., Сетко Н.П., 1990; Reid T.M., Feig D.I., Loeb L.A., 1994; Владимиров Ю.А., 2000; Скальный А.В., Кудрин А.В., 2000).

В настоящее время при ухудшении экологической обстановки очень важны исследования по изучению механизмов СРО в условиях воздействия экзотоксикантов.

Так, в литературных источниках имеются данные о нарушениях в уровне активности антиоксидантов в организме как при эндогенных, так и экзогенных воздействиях. Опытным путем И.В. Кудаева с соавторами (2008) доказала, что значительно снижается активность СОД и накапливаются вторичные продукты ПОЛ при одновременном воздействии парами металлической ртути и комплексом токсических веществ. По мнению авторов, это может свидетельствовать о характере выраженности

компенсаторных механизмов антиоксидантной защиты.

В 2008г. Э.Ф. Аглетдинов с соавторами изучили состояние глутатион-зависимой системы в гепатоцитах крыс при экспериментальном отравлении полихлорированными бифенилами. Экзотоксикант (смесь ПХБ «Совол» в оливковом масле в дозе 300 мг/кг (0,05 ЛД<sub>50</sub>) и 600 мг/кг (0,1 ЛД<sub>50</sub>) вводили опытным крысам-самцам используя зонд. В результате уровень ТБК-реактивных продуктов значительно увеличился, но при введении дозы 600 мг/кг ксенобиотика регистрировали снижение активности СОД, каталазы, глутатионпероксидазы и глутатион-Б-трансферазы.

Исследования Р.Н. Яппарова (2008) показали, что кровь и моча у рабочих ЗАО «Каучук» как мужчин, так и женщин, контактирующих со смесями бензина, растворителя марки БР-1 и с хлорированными углеводородами, содержала повышенный уровень диеновых конъюгатов, МДА, оснований Шиффа. Наиболее значимые сдвиги в интенсивности свободнорадикальных процессов обнаруживались при комбинированном действии смеси экзотоксикантов.

Острый психоэмоциональный стресс, индуцируемый на молодых самках обезьян макака – резус, в экспериментах Н.Д. Гончаровой с соавторами (2008), показал, что уровень активности СОД в эритроцитах крови снижался в ответ на стрессогенное воздействие, но при этом увеличивалась активность глутатионредуктазы и уровень кортизола. В ходе эксперимента Е.Ф. Суриной - Марышевой (2008) так же доказано, что при кратковременном виде стресса понижается уровень ПОЛ в плазме крови, но повышается активность ферментов «аварийной защиты»: каталазы и СОД. По результатам этих исследований был сделан вывод, что начальный этап протекания иммобилизационного стресса сопровождается не активацией, а наоборот, ингибированием процессов СРО в плазме крови.

Неоднозначны результаты следующих исследований свободно-радикальных процессов. Так, после острой кровопотери доказано понижение уровня  $\alpha$ -токоферола и аскорбата в клетках крови - эритроцитах (Боровкова

Г.И. и др., 2005). При индуцированной токсином гиперплазии простаты у крыс обнаружено уменьшение глутатионпероксидазы и общей антиокислительной активности крови (Белостоцкая Л.И. и др., 2005). В экспериментальных паранеопластических процессах В.А. Кипиани в 2006г. у лабораторных крыс и мышей доказано снижение активности антиоксидантных процессов, и отмечено нарушение про- и антиоксидантного баланса в ткани печени и в крови. С.А. Попов с соавторами (2008) зарегистрировали при развитии гипертиреоза не только повышение содержания восстановленного глутатиона, но и уровень активности глутатионпероксидаз и глутатионтрансфераз в сыворотке крови крыс, в тканях печени и сердца.

В работах Е.Б. Меньшиковой с соавторами (2008), И.В. Григорьевой с соавторами (1993), доказано усиление СРО и процессов ПОЛ в сыворотке крови и в легочной ткани, а так же понижение антиокислительной активности у больных с заболеваниями легких.

В экспериментах Ахалая М.Я. с соавторами (2006) доказано, что после кратковременном охлаждении организма мышей, в плазме крови усиливается активность каталазы и СОД, отмечается повышение уровня церулоплазмينا и небелковых тиолов.

Несмотря на значительное количество вышеприведенных фактов, информация о природе ПОЛ, веществах принимающих участие в свободно-радикальных процессах и в биологических эффектах, сопровождающих их, недостаточно исследована взаимосвязь СРО в органах иммунной системы и плазме крови в условиях хронического экзогенного воздействия.

## **1.4 Воздействие сероводородсодержащего газа на функциональные системы организма**

Постепенное повышение добычи газа и нефти за последние 10 -15 лет определяется экономической необходимостью и обеспечивается вводом в эксплуатацию новых и ускоренным разрабатыванием старых месторождений в северных, юго-восточных и южных регионах России. Добываемое сырьё из этих месторождений, а в частности, природный газ, обогащен серосодержащими соединениями, такими как: сероводород, сероуглерод, сероокись углерода, двуокись серы, дисульфиды, меркаптаны, тиозфиры.

Высокие темпы добычи нефти и газа, резкое увеличение объёмов их глубокой химической переработки обуславливают значение нефтегазоконденсатных комплексов, где сосредоточена и добыча и переработка, как объектов, негативно воздействующих не только на экологию, но и на биологические ритмы (Агаджанян Н.А. и др., 2013; Комаров Ф.И., Рапопорт С.И. и др., 2017).

Современные крупные комплексы, специализирующиеся на переработку газового и нефтяного сырья с мощной в них инфраструктурой, воздействуют на составные части внешней среды: атмосферу, гидросферу и литосферу, а так же на растительный и животный мир. При определении вклада факторов риска в формировании здоровья населения показало, что до 56,9% из них приходится на загрязнение окружающей среды (Боев В.М., Верещагин Н.Н. и др., 2003; Новиков А.В. и др., 2007). При этом величина комплексной антропогенной нагрузки среды обитания на население, проживающее на урбанизированной территории в 4,9 раза выше, чем в сельской местности, вследствие накопления поллютантов в почве и воздухе (Куценко С.А., 2004; Сетко Н.П., Боев В.М., 2009; Боев В.М., 2013, 2017).

Ведущим промышленным предприятием Астраханской области является ООО «Газпром добыча Астрахань», среди производственных факторов которого сероводород занимает ведущее место (Авалиани С.Л., Ревич Б.А., Захаров В.М., 2001). При этом по данным обследований,

проведенным А.Т. Абдрашитовой с соавторами (2011«в») среди 1600 сотрудников предприятия, преобладающее большинство из них имеют признаки преждевременного старения, снижение иммунитета.

В связи с этим, мероприятия по охране здоровья человека становятся в настоящее время все более сложными, ввиду постоянно возрастающих загрязнений окружающей среды. В таких условиях для восстановления экологического равновесия необходимы углубленные исследования механизмов накопления, детоксикации и выведения вредных химических веществ из организма человека.

К числу наиболее опасных продуктов, загрязняющих окружающую среду, относятся такие вещества как сероводород, сернистый ангидрид, а так же диэтаноламин, используемый для очистки и сушки газа (Demaret D., Fialaire J., 1974; Верещак Е.В., Бондарь Т.П., 2007). Один из агрессивных компонентов сероводородсодержащего природного газа при токсических воздействиях на организм человека имеет – сероводород. Его количество в газе Астраханского месторождения достигает до 24 об%, а в составе газа Оренбургского месторождения всего – от 1,4 до 1,6 об%.

Для всех живых объектов сероводород обладает не только высокой токсичностью (Боев В.М., Сетко Н.П., 2001; Доценко Ю.И., Сердюков В.Г., 2007), но и может вызывать коррозионное повреждение конструкций из стали и водородное охрупчивание металла, что приводит к быстрому, нередко внезапному разрушению используемого оборудования в результате образования глубоких язв и коррозионного растрескивания металла (В.И. Бойко, 1989).

В связи с этим, не исключена возможность воздействия серосодержащих газообразных поллютантов на состояние здоровья рабочих АГКМ, населения Астраханского региона и может приводить к летальному исходу, что уже имело место, к сожалению, в 1987 - 1994 годах, с симптомами асфиксии и острой сероводородной интоксикации по данным В.А. Сундукова с соавторами (1987) и Ю.С. Чуйкова (1993, 1999). В

литературных источниках имеются публикации, посвященные острым отравлениям в нефтехимической промышленности за рубежом (W. Burnett, 1977; P.A. Hessel, F.A. Herbert, L.S. Melenka, 1997). Так, при техногенных авариях на нефтехимических предприятиях выявлено отравившихся сероводородом - 221 человек, погибших 6%. В большинстве из числа пострадавших выявлена неврологическая симптоматика, а в 40% случаях требовались те или иные формы вспомогательного дыхания, в 15% случаях произошел отек легких (W. Burnett, 1977).

Результаты исследований таких ученых как: Е.П. Володиной, А.В. Фоменко, И.В.Новикова (2004); Ю.И.Доценко и В.Г. Сердюкова (2007); Л.А. Кушнир с соавторами (2008) показали, что на рабочих зонах и территориях АГПЗ воздух диффузно загрязнен вредными веществами, при этом в воздушный бассейн г. Астрахани ежегодно выбрасывается около 230 тысяч тонн химических веществ. Зафиксировано наличие среди них углеводородов, сернистого ангидрида, окисей углерода и азота. Подавляющее большинство этих веществ относится к пульмонотоксикантам, поэтому они в результате промышленного воздействия могут снижать резервы здоровья, и вызвать рост специфической патологии и проявлению новых форм экологически обусловленных болезней (Пушкарев А.С. и др., 1989; Балашов В.И., Загородняя М.С. и др., 1993; Вельтищев Ю.Е., 1994; Величковский Б.Т., 1998; Бучина М.М. с соавт., 2001; Бучин В.Н. с соавт., 2002, 2007; Омирбаева С.М. с соавт., 2004; Сагитова Г.Р. с соавт., 2004; Изтлеуов М.К. с соавт., 2006; Эсаулова Т.А., 2009).

Сброс серосодержащих газов может происходить и в условиях природных катаклизмов, например, при повышении вулканической деятельности. В результате чего были зафиксированы сероводородные интоксикации, отек легких и головного мозга (Adelson L., Sunshine L., 1966; Simson R., Simson G., 1971; Demaret D., Fialaire J., 1974; Audean F., 1985).

Несмотря на многокомпонентный состав промышленного природного газа АГКМ, наиболее опасным его звеном является сероводород, токсичность



которого в составе газа выше чистого сероводорода примерно в 3,0 раза (Асфандияров Р.И. с соавт., 1995). По данным Великанова Э.Б. с соавторами (1989), механизм действия серосодержащего газа АГКМ и чистого сероводорода в принципе одинаков, т.к. наблюдаются сходные явления инактивации цитохрома P<sub>450</sub> и активации ПОЛ, что приводит к недостаточности цитомембран с выходом цитозольных ферментов в кровь.

Основным путем поступления сероводорода во внутреннюю среду организма, как человека, так и животных является ингаляционный (Patty F.A., 1949; Milbi T.H., 1962; Загидуллин З.Ш. др., 1963). Однако, ряд авторов считают возможным проникновение серосодержащих соединений через неповрежденную кожу, барабанную перепонку и пищеварительный тракт (Ойвин И.А., 1943; Fleming A., 1954; Ronk R., White M.K., 1985; Петрунь Н.М., 1965, 1966; Могош Г., 1984).

Наиболее важным аспектом токсического действия сероводорода, по мнению исследователей (Камнев В.М. и др. 1965; Коптеева Е.Г.; 1965; Саноцкий И.В. и др., 1979; Haggard H.W., 1925; Evans C.L., 1967; Haider S.S., Hasan M., 1984; Gagnaire F. et al., 1986), является воздействие его на нервную и сосудистую систему. В результате прямого раздражающего действия сероводорода на влажные ткани глаза развивается кератоконъюнктивит, известный под названием “газовый глаз“ (Nesswetha W., 1969; Gosselin R. et al., 1976; Lou M.F., 1990; Guidotti T.L., 2015; Кулагин В.Ю. и др., 1993).

Даже в малых концентрациях сероводород способен вызывать раздражение слизистых оболочек верхних дыхательных путей, образуя сульфид натрия с основаниями находящимися на поверхности эпителия (Зислин Д.М., Стерехова Н.П., 1977; Izmerov N. et al., 1982; Kimura K. et al., 1994). В результате дальнейшего воздействия серосодержащего газа развивается ринит, фарингит, бронхит, пневмонии (Трубников Г.А., 1994). Н.Н. Тризно с соавторами (2007) исследовали патогенетические механизмы развития микроциркуляторных нарушений в легких, вызванных хроническим воздействием сероводородсодержащим газом в концентрации 3 мг/м<sup>3</sup> по

сероводороду. Полученные авторами данные говорят о том, что сероводородсодержащий газ вызывает нарушение микроциркуляции, проявляющееся в уменьшении перфузии ткани кровью, увеличивает сброс крови через артериоловеноулярные анастомозы. Авторы предполагают, что, вероятно, нарушения микроциркуляции связаны с дефицитом синтеза оксида азота.

Так как сероводород быстро инактивируется в крови, его не считают ядом с кумулятивным действием (Haggard H.W., 1925; Yant W.P., 1930; Ahlborg G., 1951; Arnold L.M. et al., 1985), но меркаптаны, входящие в состав природного газа, его токсичность усиливают и вызывают изменения (Kangas J. et al., 1984; Айтбаев Т.Х. 1984; Тризно Н.Н. с соавт., 2005). Анализируя многочисленные исследования авторов (Безруков Ю.Н. и др., 1975; Савельев О.Н. и др., 1979, 1980; Айтбаев Т.Х. и др., 1986; Kombian S.B. et al., 1988) можно прийти к выводу, что смеси газов и химических соединений, содержащих сероводород, значительно токсичнее одного сероводорода. Такие исследователи как, Gagnaire F. et al. (1986), Saillenfait A., Bonnet R. (1989), Baldelli R.J, Green F.H. (1993) установили, что токсичность сероводорода усиливается в присутствии диоксида углерода. Крысы переносили вдыхание воздушной смеси с  $900 \text{ мг/м}^3$  и погибали лишь при концентрации  $1400 \text{ мг/м}^3$ . В тоже время, в присутствии диоксида углерода уже при концентрации  $900 \text{ мг/м}^3$  сероводорода у всех крыс наблюдалась остановка дыхания и смерть.

Механизм токсического действия сероводорода определяется в основном инициированием реакций сернистых соединений с протеинами и свободнорадикального окисления, что является универсальной ответной реакцией организма на воздействие экзотоксиканта. Так, большая часть поступившего в организм сероводорода, связывается с белковыми молекулами и ионами металлов, образуя низкорастворимые сульфиды, угнетающие ферментативную активность и нарушающие кислотно-щелочное равновесие в тканях (Кустов В.В. и др., 1975; Петров Б.А., 1979; Даршт В.В.,

1987; Голубкина Е.В., Дюкарева О.С., Тризно Н.Н. и др. 2019). Кроме того, продукты расщепления сероводорода в организме млекопитающих взаимодействуют с различными макромолекулами - например, сульфгидрильными группами белков и глутатионом, а также способны образовывать нерастворимые соли со многими двух- и трехвалентными металлами - Cu, Zn, Fe, Co. В результате содержание перечисленных катионов снижается, что, сказывается на жизнедеятельности клеток и имеет большое значение для процессов клеточного метаболизма (Торчинский Ю.М., 1977; Тиунов Л.А., 1981, 1995).

Сероводород быстро метаболизирует не только в крови, но и в тканях. Так, И.А. Ойвин с соавт. (1955) доказали, что при различных способах введения сероводорода с изотопом серы  $S^{35}$  уже через 5 минут эксперимента ни в крови, ни в моче сероводород не обнаруживался, хотя продукты окисления его были зарегистрированы в тканях легких, почек, сердце, мышцах. Так, за первые сутки с мочой выводилось от 50 до 80 об% введенного количества меченой серы, полный вывод ее заканчивался на 6 сутки.

По данным С.А. Голикова (1986), свободный сероводород в крови экспериментальных животных обнаруживается только в том случае, если скорость его поступления в организм выше скорости его окисления.

Диссоциация сероводорода приводит к высвобождению  $HS^-$  иона, который легче проникает через биологические мембраны и нарушает процессы внутриклеточного метаболизма (Гадаскина И.Д., Абрамова Ж.И., 1980; Могош Г., 1984).

Токсическое воздействие серосодержащих газов можно сравнить с действием цианидов, необратимо ингибирующих железосодержащие цитохромы -  $aa_3$  (цитохромоксидазу), блокируя тем самым процесс восстановления кислорода. Биохимический механизм токсичности сероводорода состоит в выборочном взаимодействии с цитохромом « $aa_3$ » (Nicholls P., 1975; Peterson L.C., 1977), или с цитохром с-оксидазой (Evans

C.L., 1967; Nicholls P. et al., 1976; Smith R.P., Gosselin R.E., 1979). По данным М.А. Шишло (1975) в экспериментах *in vitro* сероводород в концентрации 34 мг/л способен полностью подавлять перенос электронов в дыхательной цепи изолированных митохондрий. В результате, как показывают многочисленные исследования, нарушается усвоение тканями кислорода и развивается острая тканевая гипоксия или аноксия (Poda G., 1966; Smith R., Gosselin R., 1979; Kangas J., et al., 1984; Asif M.J. et al., 2012; T.L. Guidotti 2015), а так же нарушается окислительное фосфорилирование и энергообразование (Ленинджер А., 1985; Ивонина Т.И. с соавторами, 1987; Пушкарев А.С., Анненкова М.А., 1989; Лукьянова Л.Д., 2001; Жигачева И.В., 2012; Wallace J.L., Wang R., 2015; Fukami K., Sekiguchi F., Kawabata A., 2017). В результате появляется своеобразный замкнутый круг: при недостатке кислорода нарушается энергетический обмен и стимулируется СРО, но в тоже время, активация свободно- радикальных процессов способствует повреждению мембран лизосом и митохондрий, углубляя энергодефицит в клетке (Лукьянова Л.Д. с соавторами, 2011; Scialo F. et al., 2017; Giorgi C. et al., 2018).

По мнению ряда авторов, сероводород угнетая тканевое дыхание не только нарушает синтез макроэргических соединений, но и понижает активность тех ферментов, которые контролируют обмен глутатиона, и участвуют в восстановлении гидроокисей мембран (Губский Ю.И. с соавторами, 1994). Блокирование активных SH-групп, участвующих в поддержании структуры белковых молекул, нарушает ультраструктуру мембран и межклеточного вещества, агрегатные состояния и целостность биологических мембран (Торчинский Ю.М., 1977). Функциональная активность, SH-групп, по-видимому, несет защитную функцию, связанную с интенсификацией их окисления. Согласно данным Н.Н. Тривно с соавторами, (2003) при воздействии сероводорода нарушение СРО в биомембранах, способствует изменению их агрегатных состояний, увеличивая подвижность молекул липидов, и приводит к потере прочности и накоплениям

недоокисленных продуктов обмена., Окисление функционально активных SH-групп белков плазмы крови и тканей, в дальнейшем, способствует переходу их в дисульфидные формы, к сдвигам pH крови в кислую сторону. Такие реакции способствуют денатурациям белков и разрушениям липидов, нарушая, в конечном итоге, морфофункциональную структуру биомембран (Полунин И.Н. с соавторами, 1999; Сентюрова Л.Г. с соавторами, 2018; Шишикина Т.А. с соавторами, 2018).

В схеме метаболизма сероводорода, предложенной В.М. Боевым и Н.П. Сетко (2001) выделяют четыре главных этапа:

- 1 – цепное СРО субстратов;
- 2 – СРО соединений серы;
- 3 – метилирование сернистых комплексов;
- 4 – взаимодействие с белковыми молекулами, содержащими дисульфидные связи и металлопротеинами.

Первые три этапа, по своей сути, представляю собой детоксикационный путь, а последний – это основа негативного токсического воздействия сероводородсодержащих поллютантов на организм.

На первых этапах воздействие серосодержащим газом способствует формированию кислородных радикалов метаболитов серы ( $S_2O_3^-$ ,  $SO_3^-$ ) и радикал кислорода  $O_2^-$ , что ускоряет ПОЛ. Активные частицы, в свою очередь, воздействуют на структуры биологических мембран, и передают радикальные свойства липидным молекулам, продолжая цепную реакцию. Образованные в ходе СРО продукты окисления фосфолипидов: гидроперекиси, спирты, диальдегиды, усиливают гидрофильность биомембран и нарушают их физико-химические свойства (Тризно Н.Н. и др., 2005).

Повреждения, возникающие при воздействии на организм стрессогенных химических веществ, в том числе сероводородсодержащего природного газа, активизируют процессы СРО (Резаев А.А. с соавторами, 1996).

По результатам исследования В.Н. Боева и др., (1989) у крыс, подверженных ингаляции природным газом, содержащим сероводород в концентрации  $300 \text{ мг/м}^3$ , усиление ПОЛ проявляется увеличением уровня МДА на 59% в печени и диеновых конъюгатов на 27%, начиная со 2 часа после окончания эксперимента. На 7-ые сутки концентрация МДА понижается и достигает уровня контрольных значений.

В условиях острого отравления серосодержащими газами Н.А. Агаджанян с соавторами (1996); И.Н. Полунин с соавторами (1999) регистрировали понижение всех показателей ПОЛ в плазме крови и печени. Но согласно данным исследования А.А. Резаева и др. (1991) в таких же условиях модели стресса отмечено повышение уровня МДА в ткани головного мозга.

Э.Б. Великанов с соавторами (1989) создавал острую интоксикацию у белых крыс с помощью газообразных серосодержащих поллютантов в концентрации  $300$  и  $600 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду. Авторы выявили уменьшение содержания альбуминов в ткани печени с молекулярной массой  $43 \text{ кДа}$  при воздействии низкой концентрации газа, но наблюдали увеличение этой же группы альбуминов в  $2,5$  раза при возрастании концентрации экзотоксиканта. При ингаляции наибольшей концентрации ( $600 \text{ мг/м}^3$ ) авторы обнаружили увеличение содержания альбуминов с молекулярной массой  $60 \text{ кДа}$  в  $1,6$  раза. Наибольшие изменения были зарегистрированы в активности альдолазы – увеличение ее содержания происходило в  $4$  раза при ингаляции высокой концентрации серосодержащего газа, а так же наблюдали рост лактат– дегидрогеназы в  $1,89$  раза и аспартат-аминотрансферазы в  $1,65$  раза в сравнении с контролем.

В.М. Боев в 2001 году при хронической ингаляции сероводородсодержащим газом на 20-е сутки эксперимента зафиксировал у крыс повышение уровня диеновых конъюгатов на 147% в сыворотке крови, с сохранением этого значения до окончания эксперимента. Наибольший рост

МДА был зафиксирован на 45-е сутки опыта в сыворотке крови, достигая 78% от контроля.

Н.Н. Тривно с соавторами (2005) приводит результаты хронической интоксикации сероводородсодержащими газами в дозе 3 мг/м<sup>3</sup>, которая способствовала увеличению содержания диеновых конъюгатов на 4,9% в крови крыс после 1-ого месяца затравки, на 18,9% после второго, и на 50,4% после 3-его месяца в сравнении с контрольными значениями. Достоверное повышение МДА в крови на 47,5% регистрировали в конце второго месяца, а в конце третьего - уже на 89,2%. Во время периода восстановления количество МДА не достигло контроля и превышало его на 32,8%. На основе результатов проведенного исследования авторами сделан вывод: «при хронической ингаляции сероводородсодержащего газа, накопленные продукты ПОЛ в крови животных способствуют истощению антиоксидантной системы».

В 2008 году М.Д. Осипенко с соавторами доказан факт повышения уровня МДА в костном мозге у белых крыс разного возраста после ингаляции природного газа АГКМ, в концентрации 90 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду. Авторы установили, что содержание МДА увеличилось на 33% в костном мозге неполовозрелых животных и на 20% повысилось в костном мозге крыс половозрелого возраста. Наибольшая активность продуктов ПОЛ зарегистрирована у крыс в старческом периоде онтогенеза.

Согласно результатам Т.А. Шишкиной (2008), хроническое воздействие сероводородсодержащего природного газа способствует изменениям функции эндотелия и проявляется на 4-м месяце эксперимента повышением продуктов СРО в ткани легкого, а так же понижением антиоксидантной защиты: снижением уровня активности каталазы крови, повышением количества ФНО $\alpha$  и ИФН $\gamma$  - противовоспалительных цитокинов, а так же изменением продукции оксидов азота и агрегацией тромбоцитов.

Для интенсификации механизмов детоксикации разных химических веществ организмом используется специальная система микросомальных оксигеназ, главным компонентом ее считается цитохром P<sub>450</sub> (Арчаков А.И., 1975; Пушкарев А.С. с соавторами 1993; Матюшин Б.Н. с соавторами, 1997; Bast A., Naenen G.R.M.M., 1991). Через метаболизм ксенобиотиков он стимулирует СРО липидных молекул. Доказывая, что именно цитохром P<sub>450</sub> активно участвует в метаболизме сульфид-иона, ряд исследователей обнаружили его неактивную форму - цитохром P<sub>420</sub> (Агаджанян Н.А. с соавторами, 1996; Тризно Н.Н. с соавторами, 2005). При этом авторы (Э.Б. Великанов, 1989; Н.А. Агаджанян с соавторами, 1996; И.Н. Полунин с соавторами, 1999) отмечают зависимость монооксигеназной системы в реакциях обмена S<sup>2-</sup> анионов и активацией процессов ПОЛ в микросомах гепатоцитов крыс в условиях ингаляции сероводородсодержащего природного газа АГКМ.

Хроническое действие сероводородсодержащего газа на организм увеличивает активность системы монооксигеназ микросом, и как результат наблюдается усиление генерации АФК и ПОЛ. В.М. Боев и др. (2001) в опытах на крысах в условиях острой затравки сероводородсодержащим газом Оренбургского месторождения, в концентрации 3 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду через 2 часа после окончания эксперимента обнаружил увеличение на 300% неактивных форм цитохрома P<sub>420</sub> в микросомальной фракции печени, на фоне понижения на 33% цитохрома P<sub>450</sub>. При этом наблюдался так же рост уровня ПОЛ и количество диеновых конъюгатов.

Сероводородсодержащий природный газ, попадая в организм в основном ингаляционно, оказывает повреждающее действие вначале на дыхательную систему, а затем и на другие органы (J. Jaakkola, V. Vilkkka, 1990; R.J. Reiffenstein, W. C. Hulbert, 1992; P.A. Hessel, F.A. Herbert, L.S. Melenka, 1997; Резаев А.А. и др., 1996; Бучина М.М. с соавторами, 2001; Тризно Н.Н. с соавторами, 2001; Полякова Н.А. с соавторами, 2001).



R. Klents (1978) экспериментально доказал, что  $H_2S$  влияет на рецепторы, которые чувствительны к воздействию  $CO_2$ , угнетая при этом фермент карбангидразу в клетках дыхательного центра. Токсичность  $H_2S$  для нейронов настолько велика, что при концентрации его  $1420 \text{ мг/м}^3$  в атмосфере достаточно одного вдоха чтобы наступила мгновенная смерть от остановки дыхания, вызванная параличом дыхательного центра (Brown K.E., 1969; Бронштейн Е.З., 1984).

Ряд авторов (Arnold L. M. et al., 1985; Карпенко Г.Н., 1987; Клейн А.В. и Ивонина Т.И., 1989; Tvedt B., Skyberg K. et al., 1989) считают, что при отравлении сероводородом самой уязвимой структурой является ЦНС. Так, при ингаляции клоачным газом, содержащим одновременно около  $1300 \text{ мг/м}^3$   $H_2S$ ,  $30 \text{ мг/м}^3$   $NH_4$  и  $7,5 \text{ об\% } CO_2$ , происходила молниеносная коматозно-судорожная форма отравления с летальным исходом. При этом в клинической картине этого отравления преобладали симптомы поражения регуляции частоты дыхания и сердечно-сосудистой деятельности, тонические и судорожные психомоторные синдромы, дистерморегуляционные и гипертензионные синдромы. Период реконвалесценции сопровождался снижением критики и эмоционального уровня (Сарин М.И. и др., 1972; Дрогичина Э.А., 1982).

Восстановительный период после острой сероводородной интоксикации, по данным одних авторов, бывает достаточно быстрым и практически без последствий (Ahiborg G., 1951; Milbi T., 1962), а по наблюдениям других - имеют место неврастения, желудочно-кишечные расстройства, депрессии, периферические невриты слухового нерва (Poda G., 1966). Эти последствия отравления проявлялись или сразу же, или через короткий латентный период и длились до 1,5 месяцев, хотя некоторые проявления стойко держались в течение 3 лет (Ahiborg G., 1951).

Многочисленные работы свидетельствуют о наличии выраженного нейротропного эффекта сероводородсодержащего газа (Карпенко Г.Н., 1987; Перепелкин С.В., 1992 и др.; Kilbum K.H., Warshaw R.H., 1995).

М.В. Мажитова с соавторами (2011) считает, что наличие чувствительности нейронов к действию экзотоксикантов связана с отсутствием в нервной ткани фермента глутатионпероксидазы и низким уровнем активности каталазы.

По данным О.М Черток (1974), В.А. Сундукова с соавторами (1987), Н.Н. Тризно с соавторами (1996) действие серосодержащего газа в концентрации  $600 \text{ мг/м}^3$  вызывает выраженные ультраструктурные изменения клеток коры головного мозга. Так, при электронно-микроскопическом исследовании нейронов коры больших полушарий авторами выявлено - набухание и вакуолизация цитоплазмы, уменьшение количества органелл, разрушение эндоплазматического ретикулума. У опытных крыс через 2 часа после окончания экспериментальной ингаляции сероводородсодержащего природного газа, в концентрации  $600 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду Н.Н. Тризно (1996) обнаружил гиперемию продолговатого мозга и отечность ткани.

О. Lung et al. (1966), R.S Hannah et al. (1991) доказали, что при вдыхании серосодержащего газа происходит очаговый некроз коры головного мозга и развиваются глиомы, другие исследователи: S.H. Roth, В. Skrajny, R. Reifenstein (1995) обнаружили снижение количества клеток Пуркинье. Эти изменения в морфологической картине мозга объясняют появление энцефалопатии на фоне интоксикации и поражения сенсомоторных зон в головном мозге (Klausen H. et al., 1979; Солнышкова Т.Г., 2000; 2003; Ермагамбетова А.М., 2012). Действия низкой дозы по  $\text{H}_2\text{S}$  в  $30 \text{ мг/м}^3$  не способствует выраженным изменениям в морфологии тканей, но вызывает понижение содержания фосфолипидов и усиление скорости ПОЛ в клетках больших полушарий и стволе головного мозга (Haider S., et al., 1984). В нейронах коры мозга А.А. Резаев и др., 1991; М.В. Мажитова, 2012 зарегистрировали повышение содержания МДА. Так же в литературных источниках имеются данные, свидетельствующие о снижении скоростей синтеза РНК и белков (Elovaara E., Tossavainen A., 1978) в условиях

интоксикации. В гомогенатах тканей мозга снижается включение меченых молекул лейцина и увеличивается содержание альбумина (Архипова Н.Д. и др., 1980; Думкина Г.З. и др., 1992; Kombian S.W., Warena M.W., Mele F.G., 1988).

А.А. Бахтин с соавторами (2013), Т.Ж. Умбетов с соавторами (2018), описывают влияние сероводородсодержащего газа на лимфоидную ткань кишечника и паренхимы трахеобронхиальных лимфатических узлов. Авторами выявлено, что хроническая интоксикация вызывает воспаление стромы и паренхимы в лимфатических узлах, увеличение площади мозговых тяжей, отсутствие центров размножения в лимфоидных узелках.

Л.К. Хужахметова (2004) показала наличие выраженных признаков дистрофии в клеточных элементах эпифиза при воздействии природного газа с концентрацией по сероводороду в  $300 \text{ мг/м}^3$ . Автором обнаружена деформация ядер в пинеалоцитах, снижение электронной плотности и цитоллиз, выражен кариолизис. При этом цитоплазма клеток вакуолизируется и отмечается малое число органелл.

Изучение элементов сетчатки глаза млекопитающих, которые подвергались экзотоксическому действию серосодержащих поллютантов Астраханского газоконденсатного месторождения, выполненное И.С. Бабий (1999), Б.В. Фельдманом (2008) показало, что клетки ядерных слоёв окрашиваются менее интенсивно по сравнению с животными контрольной группы. Это, по мнению авторов, объясняется снижением содержания в цитоплазме хроматофильного вещества. Сетчатые слои характеризуются дегенеративными изменениями, происходящими в отростках фоторецепторных, горизонтальных, биполярных и амакриновых клеток. Значительно суживается дендритное дерево, появляется варикозность, а в ряде клеток и распад отростков. При электронно-микроскопическом исследовании этих клеток наблюдается распад ядерной оболочки и митохондрий, расширение цистерн эндоплазматической сети.

Токсическое воздействие серосодержащих газов нарушает хронобиологическую структуру организма. Так, в клеточных элементах супрахиазматического ядра гипоталамуса, эпифиза, ганглиозных нейронах сетчатки глаза, гепатоцитах происходило сглаживание кинетической кривой белкового метаболизма, снижение амплитуды и мезора колебаний, смещение акрофазы и даже инвертация ритма (Бекчанов А.Н., 2001; Фельдман Б.В., 2011; Аношкина Е.В., 2016).

При ингаляции серосодержащим газом формируется токсическая гипоксия. На начальной стадии она обусловлена дыхательной недостаточностью и циркуляторными расстройствами. Затем в ходе накопления сульф- и метгемоглобина происходит нарушение процесса транспортировки к органам и тканям кислорода, снижение способности тканей утилизировать кислород (Беднов И.А. и др., 2007; Шишкина Т.А., 2018). В.И. Бойко с соавторами (2001) выявили признаки скрытой гипоксии у работников АГПЗ, выражающиеся в увеличении числа эритроцитов, ретикулоцитов и гемоглобина периферической крови.

Таким образом, при хронической интоксикации серосодержащие поллютанты проявляют свое действие и в объеме циркулирующей крови, нарушая обменные процессы между микроциркуляторным руслом и клетками (Юшков Б.Г., 1999; Боев В.М., 2001; Ярошинская А.П., 2011, 2016), изменяя при этом проницаемость мембран эритроцитов (Петросян Э.А., Неделько Н.А., 2001).

Гипоксия в тканях и экзогенные токсические воздействия могут способствовать формированию синдрома эндогенной интоксикации, который характеризуется выраженными накоплениями эндотоксинов в жидкостях и тканях организма, которые, в свою очередь, приводят к дисфункции систем и органов (Макарова Н.П. с соавторами, 1995; Лейдерман И.Н. и др., 1997). По данным Е.В. Корякиной с соавторами (2001), Э.А. Петросяна с соавторами (2000) именно продукты перекисного окисления играют не последнюю роль в развитии синдрома эндогенной интоксикации. Активация

ПОЛ, инициируемого свободными радикалами является, как считают исследователи, одним из ведущих патофизиологических механизмов развития эндотоксикоза.

Васильков В.Г. с соавторами (2001) доказал, что при дисбалансе реактивности ПОЛ и уровнем активности АОЗ может понижаться транспортная функция альбумина, т.к. продукты ПОЛ блокируют его синтез. Согласно результатам опытов Н.Н. Тривно с соавторами (2003) наибольший уровень в показателях эндотоксикоза (по концентрации веществ с низкой и со средней молекулярной массой, содержание олигопептидов) был выявлен в крови к 4-ому месяцу хронической затравки серосодержащим газом. В конце периода восстановления все изученные показатели эндогенной интоксикации были выше нормы, но отмечалась тенденция к их снижению. По мнению В.В. Николайчик с соавторами, (1989) отдельные фракции веществ низкой и средней молекулярной массы, как показатели эндотоксикоза, могут изменять проницаемости в биомембранах, нарушая тканевое дыхание и активизируя СРО, а так же могут способствовать нарушениям в лимфодинамике и микроциркуляции.

Несмотря на то, что в процессе переработки природного газа АГКМ приняты наиболее современные в мировой промышленности технологические процессы и наиболее совершенное оборудование, актуальным и перспективным направлением экологической медицины остается открытым вопрос о поисках возможностей снизить токсический эффект сероводородсодержащего газа на организм. В опытах Н.А. Агаджаняна с соавторами (1996) были зафиксированы положительные профилактические эффекты при введении препаратов, блокирующих ацетилхолинергические, серотонин- и гистаминергические рецепторы. С.А. Денисова с соавторами (2008) экспериментально доказала снижение токсичности сероводорода при воздействии на его молекулу высокочастотных излучений. Т.Г. Солнышкова с соавторами (2000) применяли в условиях острой интоксикации, вызванной природным газом, в

качестве протекторов семакс и ноотропил. Эти препараты способствовали снижению активности ПОЛ, а так же позволили сохранить нейроны и синтетическую активность в них. Введение эмоксипина и  $\alpha$ -токоферола по данным М.В. Мажитовой (2012) позволило установить равновесие в системе прооксиданты – антиоксиданты в плазме крови и различных отделах центральной нервной системы молодых и старых крыс в условиях хронической сероводородной интоксикации.

Таким образом, анализируя вышеприведенные литературные источники, можно сказать о том, что, имеющиеся к настоящему времени данные о воздействии природного газа АГКМ, и в частности, его наиболее токсического компонента - сероводорода, касаются острой интоксикации или хронической, но информации о длительных воздействиях сероводорода на экспериментальных животных в субтоксических концентрациях явно недостаточно, и зачастую носят отрывочный характер. Вместе с тем, токсическое действие продуктов АГКМ на клетки выражено в подавлении активности ферментных систем, в нарушении процессов внутриклеточного дыхания, в торможении синтеза белков и транспорта веществ. Сведения, характеризующие влияние сероводорода и его соединений на морфологические структуры тканей органов иммунной системы, единичны. В связи с этим, представляется целесообразным необходимость углубления исследований о влиянии природного газа АГКМ на тимус, лимфатические узлы, селезенку и поиск путей современной коррекции патологии иммунной системы на фоне хронического стресса.

## Глава 2. Материалы и методы исследований

### 2.1. Общая характеристика экспериментов

Работа выполнена в лаборатории экспериментальной физиологии ФГБОУ ВО АГУ и лаборатории кафедры биологии и ботаники ФГБОУ ВО Астраханского ГМУ Минздрава России. Опыты поставлены на 675 беспородных белых крысах - самцах, которых содержали в свободном доступе к пище и воде в условиях вивария.

В соответствии с целью и задачами исследования животные были подразделены на группы со средней массой тела, соответствующей возрастной классификации лабораторных крыс (Западнюк И.П. и др., 1983; табл. 1)

**Таблица 1**

Возрастная классификация лабораторных крыс

Период	Возраст (до суток)
Молодой (неполовозрелый)	36
Зрелый (половозрелый)	435
Старческий	810

Содержание и кормление животных проводилось в соответствии с «Санитарными правилами по устройству, оборудованию и «Содержанию экспериментально-биологических вивариев» (ГОСТ Р.50258-92).

При проведении исследования соблюдались требования «Правил проведения работ с использованием экспериментальных животных (ГОСТ 351000.3-96 и 51000.4-96 (А.И. Матюшин, В.С. Осняч, Т.Н. Павлова, 1987).

Экспериментальные исследования выполнены в соответствии с Приказами МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г. «О мерах по дальнейшему совершенствованию организационных форм работы с использованием экспериментальных животных», № 701 от 27 июля 1978 г. «О внесении дополнений в Приказ МЗ СССР № 755 от 12 августа 1977 г.», а также

положениями «Хельсинской Декларации по вопросам медицинской этики» и «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1989).

Для проведения экспериментальных исследований было получено заключение этического комитета.

Все животные были подразделены на интактных (обозначенная в дальнейшем группа - К) – контрольные крысы, не подвергавшиеся стрессу, и на экспериментальных (стрессированные крысы).

В соответствии с возрастом все лабораторные животные были разделены на три группы:

первая: молодые (неполовозрелые) – от 15 дней до 1 месяца жизни;

вторая: половозрелые – 6 – ти месячного возраста;

третья: старые – 2-х лет жизни.

Экспериментальные животные подразделялись на две подгруппы:

1) животные, подвергавшиеся ингаляционному воздействию серосодержащим природным газом, в концентрации  $90 \pm 4 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду (обозначенная как подгруппа - ССГ);

2) животные, подвергавшиеся ингаляционному воздействию серосодержащим природным газом, в концентрации  $90 \pm 4 \text{ мг/м}^3$  по сероводороду на фоне комплексного введения антиоксидантов (альфа-токоферола ацетата и тималина), обозначенная далее как подгруппа (ССГ+АО).

Интактные (контрольные) животные находились по 4 часа в герметически закрытой затравочной камере, что и экспериментальные, но с обычным составом дыхательной смеси (атмосферный воздух).

В экспериментах в соответствии с целями и задачами исследования в качестве экзотоксического агента использовался промышленный дегидратированный природный серосодержащий газ Астраханского газоконденсатного месторождения, имеющего состав (об%):

Метан  $57,23 + 2,32$



Этан	2,31 + 0,27
Пропан	0,87 + 0,1
Изобутан	0,32 + 0,5
Изо-пентан	1,02 + 0,04
Углекислый газ	14,2 + 0,97
Азот	0,46 + 0,03
Сероводород	24,13 + 2,5

Отбор природного газа производился в специальные пробоотборники типа КПО – 42 из замерного узла установки «У171» Астраханского газоперерабатывающего завода. Состав природного газа определялся в центральной заводской лаборатории методом газохроматографического анализа с помощью хроматографа «GC - 186 VF-a».

Моделирование хронического эксперимента при ингаляции воздушно-газовой смеси проводилось согласно гигиеническим нормам к требованиям по выполнению и воспроизведению экспериментов (Токсикометрия химических веществ, 1986).

Ингаляционное экспериментальное воздействие на животных проводилось серосодержащим природным газом, в концентрации  $90 \pm 4$  мг/м<sup>3</sup> по сероводороду, что в 30 раз превышает предельно допустимую концентрацию (ПДК) сероводорода для рабочих зон при одновременном присутствии углеводородов. Концентрация сероводорода в затравочной камере, производства Московского института профзаболеваний и гигиены труда им. Эрисмана объемом 200 литров, измерялась индикаторными трубками фирмы «Auer» - Berlin (West).

Статическое воздействие серосодержащим природным газом, в концентрации  $90 \pm 4$  мг/м<sup>3</sup> по сероводороду проводилась по 4 часа в день в течение 6 недель за исключением воскресных дней, строго с 10 до 14 часов. Температура в камере составляла  $+22 \pm 2^\circ\text{C}$ , относительная влажность в начале эксперимента соответствовала 65%. Для дальнейшего поддержания требуемой влажности использовался обезвоженный силикагель, запотевания

стенок затравочной камеры отмечено не было. Экспериментальные исследования проводились на животных в осенне-зимний период с целью исключения влияния сезонных ритмов.

Концентрация сероводородсодержащего газа и условия воздействия полностью соответствует критериям проведения токсикологических экспериментов, изложенных в издании ВОЗ “Принципы и методы оценки токсичности химических веществ” (1981).

Все возрастные группы второй подгруппы экспериментальных животных в течение 6 недель опыта через день получали внутримышечно тималин (производство Самсон – Мед ООО, г. Санкт – Петербург, Россия) из расчета 0,01 мг на 100 г массы тела. Введение альфа-токоферола ацетата (10% масляный раствор, производство Фармацевтическая фабрика г. Санкт – Петербурга ОАО, Россия) осуществлялось *per os* при помощи инсулинового шприца без иглы в дозе 0,5 мг на 100 г массы тела каждого животного в течение 14 дней до опыта и во время всего периода воздействия природным газом АГКМ.

По окончании эксперимента, т.е. с 14.00 (это условие строго соблюдалось для всех групп животных для чистоты эксперимента) осуществлялась наркотизация животных этаминалом натрия (внутрибрюшинно в дозе 5 мг на 100 г массы тела), после чего производили декапитацию и осуществляли забор крови, тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки через каждые 20 минут в течении 3-х часов (табл. 3).

## **2.2 Морфометрический метод**

Выделенные тимус, паховые лимфатические узлы, селезенку фиксировали в растворе Карнуа (Ромейс Б., 1953). После проводки по восходящей батарее спиртов органы заливали в парафин. Депарафинизированные срезы толщиной до 5 мкм окрашивали 0,1% водным раствором крезилвиолета по Нислю (Буреш Ян и др., 1991) и гематоксилином – эозином. Диаметр ядер клеток измеряли в плоскости

оптического среза, проходящего через ядрышко. В каждом случае изучалось не менее 100 клеток. Площадь ядер в  $\mu\text{м}^2$  определяли по формуле  $S=\pi/4 \times d_1 d_2$ , где  $d_1$  и  $d_2$  - взаимно перпендикулярные диаметры ядер. Микроскопический анализ, морфометрию и фотографирование препаратов проводили с помощью микроскопа системы «Биолам» и окуляр – микрометра МОВ-1 15× при общем увеличении ×400. Микрофотографии получены с помощью цифровой фотокамеры Mercury Cyber Pix E-560 M и монокулярного оптического адаптера.

Определение клеток с конденсированным хроматином проводили с помощью окраски этидием бромидом (Kumari S R. et al., 2000; Lim H H. et al., 2001; Vijayan A. et al., 2001; Vogt C J. et al., 2001) для этого осуществляли:

1. депарафинирование срезов
2. нанесение этидия бромида на стекла (0,05 мг/мл).
3. окрашенные стекла помещали в термостат при температуре  $37^0$  C, на 30 минут.
4. не высушивая стекла (нанесение на срезы р-р Рингера - Кребса рН 6,0-6,5), проводили люминесцентную микроскопию.

С помощью универсального люминесцентного микроскопа при увеличении ×40 и длине волны – 546 нм, подсчитывали количество апоптотических клеток с конденсированным хроматином в тимусе, паховых лимфатических узлах и селезенке. Уровень апоптоза находили процентным соотношением от числа нормальных клеток на 4-5 срезах каждого изучаемого органа крысы, и далее определяли среднее количество на группу животных.

## **2.3 Биохимические методы**

### **2.3.1 Хронобиологические исследования**

Для осуществления хронобиологических исследований опытных и интактных животных забивали через каждые 20 минут в течении 3-х часов от момента прекращения эксперимента.

*Определение общего белка* в плазме крови и в гомогенатах органов регистрировали с помощью биуретового метода. Для этого производилось смешивание 5 мл рабочего раствора биуретового реактива и 0,1 мл сыворотки крови, либо гомогената. Через 30 минут, используя спектрофотометр Ваекман (США) производили измерения при длине волны 500-560 нм против холостой пробы. Гомогенаты тимуса, лимфатических узлов и селезенки готовили в гомогенизаторе Даунса на фосфатном буфере 0,07М рН 7,45 (1:1) непосредственно перед измерением. Холостая проба готовилась смешиванием: 0,1 мл 154 ммоль/л раствора хлорида натрия и 5 мл рабочего биуретового реактива, далее обрабатывалась как опытная проба. Расчеты производились по выстроенному калибровочному графику.

*Определение содержания альбумина* в плазме крови и в гомогенатах органов осуществлялось унифицированным методом [Лабораторные методы исследования в клинике / Под ред. проф. В.В. Меньшикова, М.: Медицина. – 1987. – с.175 – 176], основанном на взаимодействии альбумина с бромкрезоловым зеленым в слабокислой среде в присутствии детергента, с последующим образованием окрашенного комплекса синего цвета. Измерения проводили на спектрофотометре Ваекман (США) при длине волны 630—690 нм против холостой пробы. Холостая проба готовилась, как и опытная, но вместо сыворотки добавляли 0,1 мл воды. Расчеты производились по выстроенному калибровочному графику.

Уровень содержания глобулинов в плазме крови вычисляли определением разницы между уровнями содержания общего белка и альбумина плазмы крови.

### **2.3.2 Определение относительного коэффициента массы органа**

Одним из наиболее ранних проявлений формирования стресс – реакции в тканях органов иммунной системы является уменьшение относительного коэффициента массы тимуса, селезенки и лимфатических узлов на фоне

хронической интоксикации. Относительный коэффициент массы органа,  $M \pm m$ , мг/100г веса животного рассчитывали по формуле:

$m = A \times k$ , где  $A$  – это разница между максимальным и минимальным значением массы органа;  $k$  – коэффициент для расчета стандартной ошибки.

$M = \sum n / n$ , где  $\sum n$  – сумма показателей массы,  $n$  – число наблюдений.

### **2.3.3 Проба Торна**

Для оценки стресс-реакции проводилась эозинопеническая проба Торна, которая заключается в изменении числа эозинофилов в  $1 \text{ мм}^3$  крови. Подсчет клеток производили после окрашивания жидкостью Дунглера. Для приготовления основного раствора смешивали 500 мг эозина калия со 100 мл дистиллированной воды, затем добавляли 12,5 мл 40% раствора формалина. Рабочий раствор готовили из основного, для чего два объема основного раствора смешивали с двумя объемами ацетона и шестью объемами дистиллированной воды. Забор крови для анализа производили из хвостовой вены. После окрашивания эозинофилов жидкостью Дунглера производили подсчет клеток в камере Горяева. В условиях интоксикации на фоне введения комплекса антиоксидантов так же контролировали изменение числа эозинофильных гранулоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови.

### **2.3.4. Исследование интенсивности свободно-радикальных процессов**

#### **2.3.4.1 Определение уровня перекисного окисления липидов**

Перекисное окисление липидов в плазме крови и гомогенатах органов иммунной системы определяли по методу И.Д. Стальной и Т.Г. Гаришвили (1977) в модификации Е.А. Строева и В.Г. Макаровой (1986), основанном на взаимодействии одного из наиболее важных конечных продуктов перекисного окисления липидов малонового диальдегида (МДА) – с тиобарбитуровой кислотой с образованием окрашенного в розовый цвет триметинового комплекса, определяемого спектрофотометрически,

имеющего максимум поглощения при длине волны в области 530-532 нм. Окраска раствора пропорциональна концентрации малонового диальдегида.

Учитывая, что не только МДА в кислой среде реагирует с тиобарбитуровой кислотой, по данной методике определяли содержание продуктов ПОЛ, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-рп), скорость индуцированного ПОЛ (Аск. ПОЛ), скорость спонтанного ПОЛ (Сп.ПОЛ). Процесс окисления липидов индуцировали добавлением в реакционную среду аскорбиновой кислоты и ионов железа (II). Для проведения анализа плазму крови разводили охлажденным 1,2% раствором хлорида калия. Гомогенаты тканей тимуса, лимфатических узлов и селезенки готовили на фосфатном буфере (pH=7,45). Гомогенизацию проводили при температуре 0 - +4<sup>0</sup>С. Спектрофотометрические исследования проводили на спектрофотометре UV mini 1240 UV-VIS СРЕКТРОФОТОМЕТР SHIMADZU.

Определялись следующие показатели свободнорадикальных процессов: исходное перекисное окисление липидов (ПОЛ) по уровню содержания малонового диальдегида (МДА) в нмоль/0,05 г сырого веса ткани, а скорость спонтанного (Сп. ПОЛ) и аскорбатзависимого (Аск. ПОЛ) в нмоль образовавшегося МДА в пробе за 1 час инкубации.

Расчеты производились по формуле.

$$x_1(x_2) = \frac{E_1(E_2) * 3 * 3,2 * 6}{0,156 * 2};$$

$$x_3 = \frac{E_3 * 3 * 3,2}{0,156 * 2};$$

где  $x_1$  – скорость спонтанного ПОЛ (нмоль МДА на 500 мг ткани за 1 час инкубации);  $x_2$  – скорость аскорбатзависимого ПОЛ (нмоль МДА за 1 час инкубации);  $x_3$  – исходное содержание МДА в ткани (нмоль МДА / 500 мг ткани);  $E_1, E_2, E_3$  – экстинции проб; 3,2 – общий объем исследуемых проб; 2 – объем надосадочной жидкости, взятой на определение МДА, мл; 3- объем проб, взятых на фотометрию, мл; 0,156 – экстинция 1 нмоль МДА в 1 мл при 532 нм.

### 2.3.4.2 Определение уровня окислительной модификации белков

Окислительную модификацию белков в плазме крови и гомогенатах тимуса, лимфатических узлов и селезенки определяли спектрофотометрически по методике Е.Е. Дубининой, С.О. Бурмистрова, Д.А. Ходова, И.Г. Поротова (1995). Принцип определения основан на реакции взаимодействия окисленных аминокислотных остатков белков с 2,4-динитрофенилгидразином (2,4-ДФГ) с образованием окрашенных производных динитрофенилгидразона.

Для анализа использовали плазму крови (0,1 мл) и гомогенаты тканей органов иммунной системы (0,1 мл) крыс. Осаждение белков в плазме крови и гомогенатах осуществляли с помощью 20% раствора трихлоруксусной кислоты. К денатурированным белкам приливали равный объем (1 мл) 0,1М 2,4-ДФГ, растворенного в 2М НСl. В контрольную пробу приливали вместо 2,4-ДФГ равный объем 2М НСl. Реакцию осуществляли при комнатной температуре в течение часа. Затем пробы центрифугировали при 3000g в течение 15-20 мин. Осадок промывали 3 раза раствором этанол-этилацетат. Полученный осадок подсушивали с целью устранения оставшегося раствора этанол-ацетат и затем растворяли в растворе мочевины. 8М раствор мочевины приливали к осадку в объеме 2,5 мл и выдерживали на водяной бане в течение 5 минут до полного растворения.

Предварительно полученные спектры исследуемых растворов показали, что всплеск интенсивности приходится на длины волн в диапазоне 530 нм, что соответствует содержанию алифатических альдегид-динитрофенилгидразонов кислотного характера, согласно методике (табл. 2).

**Таблица 2**

Спектральный диапазон длины волн определяемых соединений  
(Дубинина Е.Е., Бурмистров С.О. и др. 1995)

Соединения	Длина волн, нм
Алифатические альдегид-динитрофенилгидразоны кислотного характера	260 - 558
Алифатические альдегид-динитрофенилгидразоны основного характера	258 - 264, 428 - 520

Алифатические кетон-динитрофенилгидразоны нейтрального характера	363 - 368
Алифатические кетон-динитрофенилгидразоны основного характера	430 - 434

Поэтому дальнейшие измерения вели при  $\lambda=530$  нм. Оптическую плотность образующихся 2,4-динитрофенилгидразонов регистрировали на спектрофотометре UV mini 1240 UV-VIS SPECTROFOTOMETR SHIMADZU.

#### 2.4. Математическая обработка результатов

Полученные экспериментальные данные были обработаны статистически с использованием компьютерных программ «Statistica for Windows 6.0», «Microsoft Excel 2007», «Cosinor Ellipse 2006» (метод хронобиологии, основанный на синусоидальной аппроксимации и фиксирующий основные показатели ритма — периоды колебаний, амплитуду, акрофазу, мезор).

Для оценки вариационных рядов и оценки достоверности результатов исследования использовали следующие показатели:  $M$  — средняя арифметическая величина;  $\delta$  — среднее квадратичное отклонение;  $C$  — коэффициент вариации;  $m$  — средняя ошибка средней арифметической.

Достоверность различий полученных результатов определяли с помощью параметрического метода с определением t-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса (С. Гланц, 1998) для множественных сравнений.

В связи со значительными различиями в содержании исследуемых показателей между плазмой крови и иммунокомпетентными органами при изложении результатов исследования для плазмы крови выражали изучаемые показатели в г/л, а для органов (тимуса, лимфатических узлов и селезенки) в условных единицах (у.е.).



Таблица 3

## Распределение животных по срокам и методам исследования

Возраст	Постнатальный онтогенез									Число животных
	Контрольные (интактные) группы			Экспериментальные группы						
				Подгруппы ССГ			Подгруппы ССГ + АО			
	Неполовозрелые 15дн. до 1 мес.	Половозрелые 6 мес.	Старые 2 года	Неполовозрелые 15дн. до 1 мес.	Половозрелые 6 мес.	Старые 2 года	Неполовозрелые 15дн. до 1 мес.	Половозрелые 6 мес.	Старые 2 года	
Общегистологический метод										
Окраска Гематокси- лином- эозином	10	10	10	10	10	10	10	10	10	90
Окраска этидием бромидом	10	10	10	10	10	10	10	10	10	90
Биохимический метод										
Хронобио- логическое исследова- ние	9 (5)	9 (5)	9 (5)	9 (5)	9 (5)	9 (5)	9 (5)	9 (5)	9 (5)	405
ПОЛ ОМБ	10	10	10	10	10	10	10	10	10	90

Всего исследовано животных: 675

### **Глава 3. Хронобиологические особенности околочасовых ритмических колебаний уровня общего белка, альбумина и глобулинов плазмы крови крыс в онтогенезе**

#### **3.1 Молодые (неполовозрелые) животные**

На кинетической кривой (рис. 1) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови молодых интактных животных. Как показал анализ хронограммы, среднее содержание белка составило 66,29 г/л. За время наблюдения отмечено 3 достоверных пика уровня общего белка на 40-й, 80-й и 160-й минуте ( $P < 0,05$ ). К 40-й минуте произошло повышение содержания общего белка на 5% ( $P < 0,05$ ). К 80-й минуте повторно регистрируется увеличение этого показателя на 11,2% ( $P < 0,05$ ). Затем наблюдалось снижение уровня общего белка до 120-й минуты наблюдения на 7% ( $P < 0,05$ ). Третий пик подъема показателя общего белка на 9,5% ( $P < 0,05$ ) регистрируется к 160-й минуте, достигнув максимального значения.

Амплитуда колебательных процессов содержания общего белка в плазме крови молодых интактных животных составила 8% от среднего ( $P < 0,05$ ) с периодом колебаний в 40 минут.

На хронограмме (рис. 2) представлена динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови молодых интактных животных. Среднее содержание глобулинов составляет 36,64 г/л. На протяжении 60 минут наблюдения кинетическая кривая носит сглаженный характер. На 80-й минуте происходит достоверное снижение уровня глобулинов на 13,4% ( $P < 0,05$ ). К 100-й минуте наблюдения происходит увеличение этого показателя на 19,4% ( $P < 0,05$ ). Следующее повышение содержания этой группы белков на 15,4% приходится на 140-ую минуту наблюдения, достигая максимума. На 160-й минуте регистрируется статистически значимое снижение уровня этой группы белков в плазме крови на 33,4% ( $P < 0,05$ ). Выявленные нами колебания содержания глобулинов в плазме крови молодых интактных животных могут быть охарактеризованы как

околочасовые с периодами в 20 и 40 минут и амплитудой около 21% от среднего ( $P < 0,05$ ).



**Рис. 1** Динамика содержания общего белка плазмы крови молодых (неполовозрелых) интактных крыс

Анализ кинетической кривой содержания альбумина в плазме крови молодых интактных животных показал, что колебания уровня показателя этого белка находятся в противофазе по сравнению с ритмическими колебаниями глобулинов, определяемое транспортной и защитной функциями белка альбумина.

На хронограмме (рис. 2) выявлен околочасовой ритм содержания альбумина в плазме крови с амплитудой 42,04% от среднего. Нами зарегистрировано 2 пика повышения его уровня на 80-й и 160-й минутах ( $P < 0,05$ ). К 80-й минуте наблюдения происходит увеличение количества альбумина на 51,3%. Затем на протяжении 60 минут наблюдения отмечается снижение его содержания, достигая минимума. Второй пик повышения уровня этого белка регистрируется к 160-й минуте, достигнув максимума. При этом увеличение содержания альбумина происходит на 99,5% ( $P < 0,05$ ). Среднее значение альбумина в плазме крови молодых животных составило 29,64 г/л с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

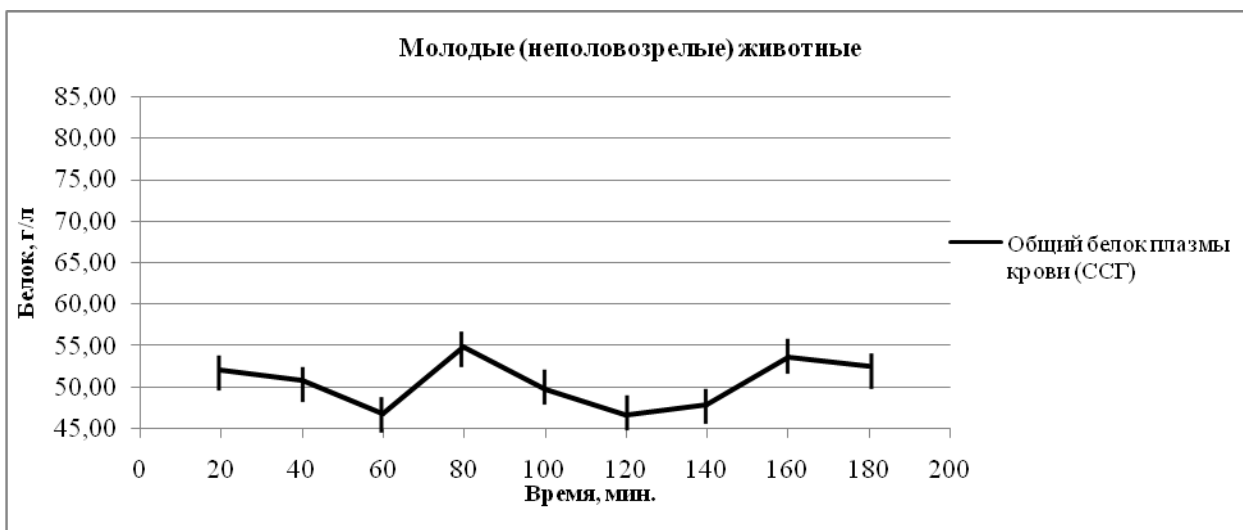


**Рис. 2** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови молодых (неполовозрелых) интактных крыс

Наиболее выраженные изменения в околочасовых ритмических колебаниях содержания общего белка в плазме крови молодых животных зарегистрированы при хронической ингаляции сероводородсодержащего природного газа АГКМ, в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$ . Достоверно снизилось содержание общего белка на 10,2% до 60-й минуты ( $P < 0,05$ ), однако к 80-й минуте уровень общего белка увеличивается на 17,3% ( $P < 0,05$ ), достигнув максимального значения. К 120-й минуте наблюдения вновь зарегистрировано его снижение на 6,4%. На 160-й минуте - содержание общего белка заметно повысилось на 12% ( $P < 0,05$ ). Среднее значение показателя общего белка плазмы крови составило 50,59 г/л.

За время наблюдения (рис. 3) отмечено два достоверных пика повышения содержания общего белка - на 80-й ( $P < 0,05$ ) и 160-й минутах ( $P < 0,05$ ). Анализ кинетической кривой показал, что периоды его колебаний составили 20 и 40 минут, амплитуда соответствует 8,5% от среднего ( $P < 0,05$ ).

На хронограмме (рис. 4) изучена динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови молодых крыс в условиях хронического стресса.

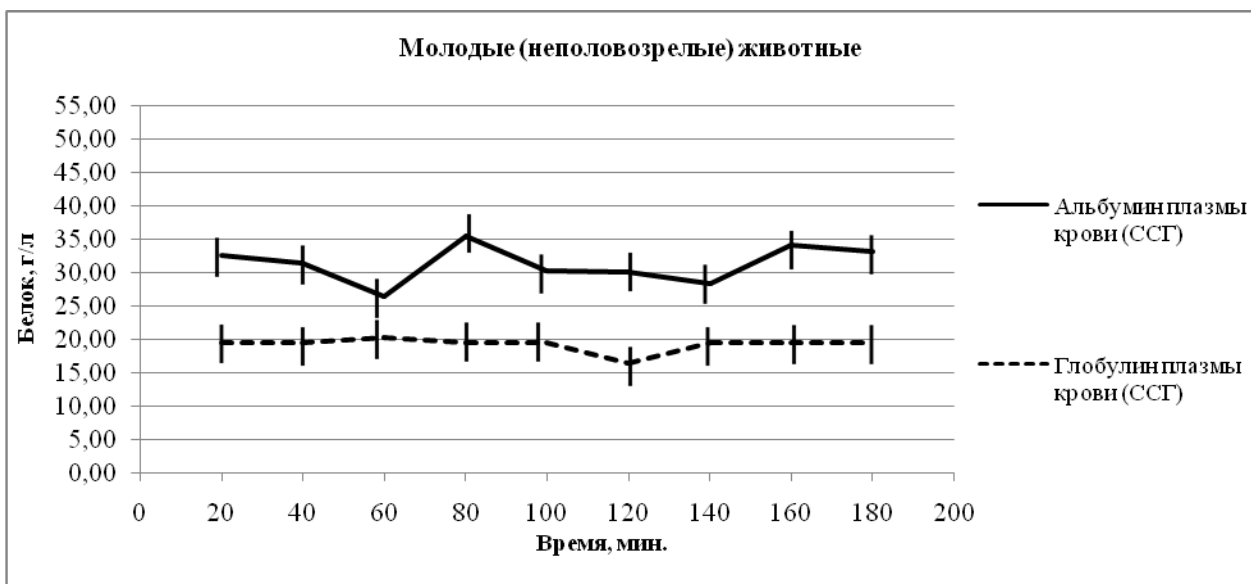


**Рис. 3 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови молодых (неполовозрелых) животных при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

Среднее содержание глобулинов составило 19,26 г/л, что на 47,4% ниже среднего контрольного показателя ( $P < 0,05$ ). Характер кинетической кривой, более сглажен в сравнении с контролем. Амплитуда колебательных процессов содержания этой группы белков в плазме крови молодых животных подгруппы ССГ составила 5,4% от среднего. К 60-й минуте произошло увеличение содержания глобулинов на 4%, но на 120-й минуте наблюдения отмечено существенное снижение этого показателя на 15,4% ( $P < 0,05$ ).

При анализе хронограммы (рис. 4) зарегистрировано 2 статистически значимых пика снижения уровня альбумина на 60-й ( $P < 0,05$ ) и 140-й минутах ( $P < 0,05$ ), а так же 2 пика повышения содержания этого белка на 80-й и 160-й минутах наблюдения ( $P < 0,05$ ). К 80-й минуте происходит увеличение альбумина на 33,6% ( $P < 0,05$ ), к 160-й минуте наблюдения отмечается повторное повышение этого показателя на 20,4% ( $P < 0,05$ ).

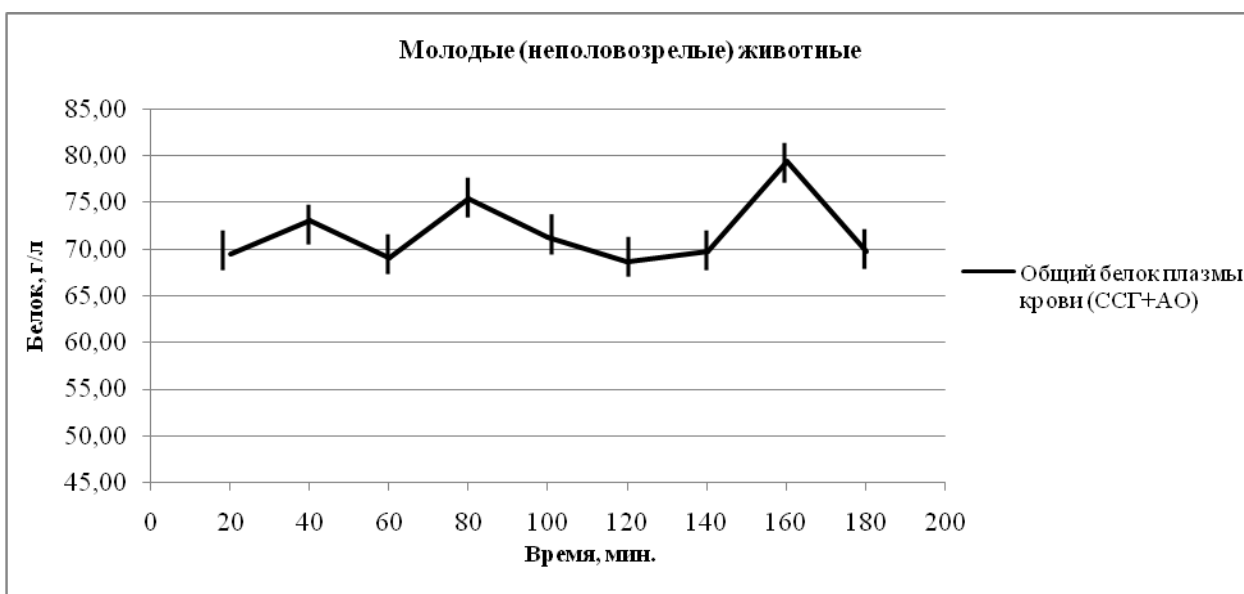
Среднее содержание альбумина соответствует 31,33 г/л, с периодом колебаний в 20 и 40 минут. Амплитуда колебательных процессов составила около 13% ( $P < 0,05$ ) от среднего.



**Рис. 4** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови молодых (неполовозрелых) крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ

*Примечание:* ССГ – подгруппа животных, подвергшаяся воздействию сероводородсодержащего газа

Таким образом, на представленных хронограммах нами зарегистрировано сохранение околичасовой периодичности содержания общего белка и альбумина в плазме крови молодых животных в условиях ингаляции природного газа АГКМ. При этом наблюдалось выраженное снижение содержания общего белка на 23,7% ( $P < 0,05$ ) и глобулинов на 47,4% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с контролем (табл. 4). Зарегистрировано так же сглаживание кинетической кривой глобулинов, которое, возможно, связано с низким уровнем резистентности синтеза этой группы белков к экзогенным токсическим воздействиям. Однако, в плазме крови молодых животных в условиях хронического стресса отмечается возрастание содержания альбумина на 5,7% ( $P < 0,05$ ) от среднего в сравнении с контролем. При этом амплитуда колебаний уровня альбумина снижается на 29% ( $P < 0,05$ ) от среднего, а у группы глобулинов приобретает линейный характер на протяжении 60 минут наблюдения. Очевидно, что изменение ритмичности в содержании альбумина в плазме крови связано с его функцией основного транспортного белка.



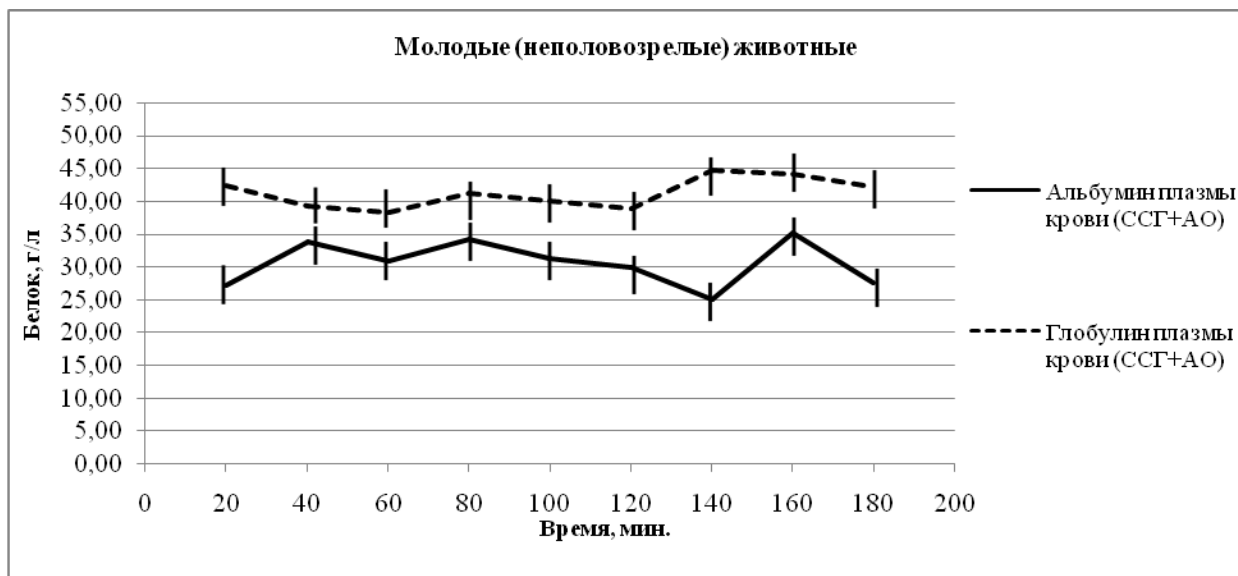
**Рис. 5 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся хроническому воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ, на фоне введения комплекса антиоксидантов**

*Примечание:* ССГ + АО – подгруппа животных, подвергшаяся воздействию сероводородсодержащим газом на фоне введения антиоксидантов

Как показал анализ хронограммы (рис. 5) среднее содержание общего белка плазмы крови составило 71,77 г/л. За время наблюдения отмечается три статистически значимых пика повышения уровня этого белка зарегистрированных на 40-й, 80-й и 160-й минутах ( $P < 0,05$ ). Периоды колебаний общего белка составили 20 и 40 минут с амплитудой 84,78% от среднего, что на 76,78% (табл. 4) выше средней амплитуды содержания общего белка у интактных животных ( $P < 0,05$ ).

На хронограмме (рис. 6) зарегистрирована динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови молодых крыс при хроническом воздействии природного газа АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов. Околочасовой ритм содержания глобулинов восстанавливается с периодом колебаний в 60 минут. Зарегистрировано 3 достоверных пика повышения показателя этой группы белков на 20-й, 80-й и 140-й минутах ( $P < 0,05$ ). К 20-й минуте увеличение уровня глобулинов произошло на 2,7% от среднего. Отмечено повторное повышение на 7,6% к 80-й минуте. Третий подъем на 15% зарегистрирован к 140-й минуте

наблюдения, достигнув максимума. Среднее содержание глобулинов составило 41,2 г/л, что на 12,5% выше, чем у интактных животных ( $P < 0,05$ ). Амплитуда колебаний уровня этой группы белков составила около 8,5% от среднего.



**Рис. 6** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся хроническому воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ, на фоне введения комплекса антиоксидантов

*Примечание:* ССГ + АО – подгруппа, подвергшаяся воздействию сероводородсодержащего газа на фоне введения антиоксидантов

Анализ хронограммы содержания альбумина в плазме крови молодых животных в условиях стресса на фоне введения комплекса антиоксидантов выявил три пика повышения его уровня. Так, на 40-й минуте произошло статистически значимое увеличение количества альбумина на 25% ( $P < 0,05$ ). К 80-й минуте наблюдения показатель повторно возрос на 11% ( $P < 0,05$ ), а к 160-й минуте уровень содержания альбумина в плазме крови достигает максимума, увеличиваясь на 40,2% ( $P < 0,05$ ). Периоды его колебаний составили 40 и 60 минут с амплитудой около 15% от среднего ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, на фоне введения комплекса антиоксидантов (тималина и альфа-токоферола ацетата) при хроническом воздействии природным сероводородсодержащим газом в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$  у молодых



животных происходит существенная модификация околочасовых осцилляций изучаемых белков.

**Таблица 4**

Уровень содержания общего белка, альбумина и глобулинов в плазме крови неполовозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Плазма крови	Группы (n=60)	Мезор (г/л)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	66,29±5,9	8%	40 мин
	ССГ	50,59±5,1*	8,5%	20-40 мин
	ССГ+АО	71,77±9,3 <sup>0#</sup>	84,78%	20-40 мин
Альбумин	К	29,64±0,6	42,04%	20-40 мин
	ССГ	31,33±1,2*	13%	20-40 мин
	ССГ+АО	40,1±5,2 <sup>0#</sup>	15%	40-60 мин
Глобулины	К	36.64±0.8	21%	20-40 мин
	ССГ	19,26±10,5*	5,4%	60-80 мин
	ССГ+АО	41,2±2,2 <sup>0#</sup>	8,5%	60 мин

*Примечание:* \* р<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup> р<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #р<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (р<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Более выраженные изменения выявлены в околочасовых ритмических колебаниях уровня содержания общего белка и глобулинов (табл. 4).

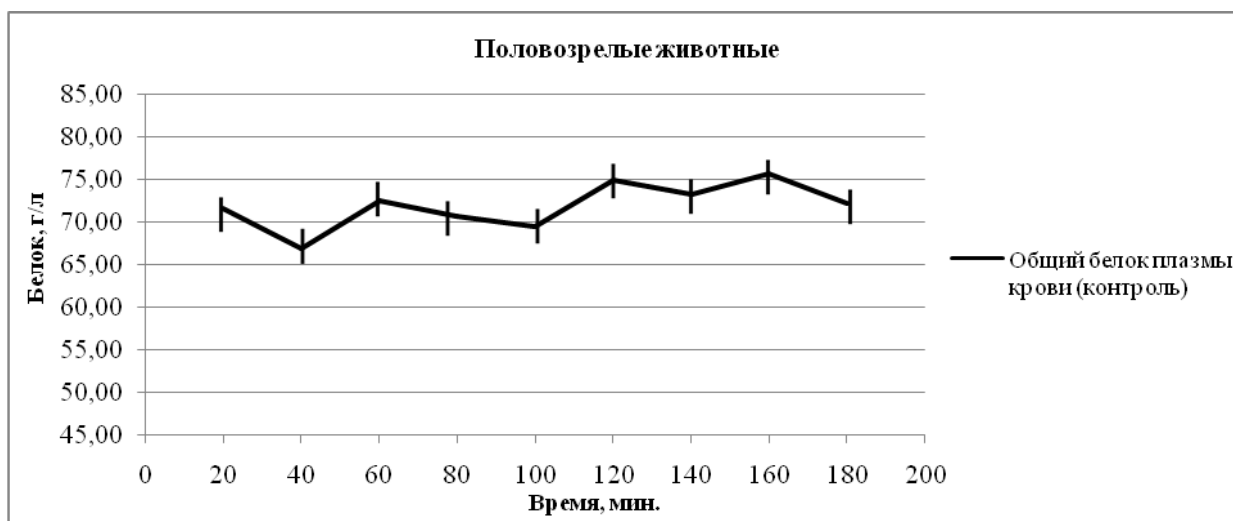
Введение комплекса антиоксидантов способствует значимой коррекции наблюдаемых изменений, увеличивая амплитуду колебательного процесса содержания общего белка, повышению уровня всех рассматриваемых показателей и приводит к восстановлению околочасового ритма глобулинов. Это говорит о целесообразности введения антиоксидантов группе неполовозрелых животных на фоне хронического стресса.

### 3.2 Половозрелые животные

На кинетической кривой (рис. 7) зарегистрированы околочасовые колебания содержания общего белка в плазме крови половозрелых интактных крыс.

Как показал анализ кинетической кривой, среднее содержание общего белка составляет 71,86 г/л. За время наблюдения отмечается 4 достоверных

пика увеличения уровня общего белка в плазме крови на 20-й, 60-й, 120-й и 160-й минуте ( $P < 0,05$ ). К 60-й и 120-й минуте происходит подъем показателя в среднем на 8%, а к 160-й минуте наблюдения регистрируется увеличение уровня общего белка до 75,6 г/л ( $P < 0,05$ ), достигая максимума. Амплитуда колебательных процессов содержания общего белка в плазме крови половозрелых интактных животных составила 5,2% ( $P < 0,05$ ) от среднего с периодом в 40 минут.



**Рис. 7 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови половозрелых интактных крыс**

На хронограмме (рис. 8) изучена динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови этой же группы животных.

Среднее содержание глобулинов составило 39,25 г/л. На кинетической кривой регистрируется 3 пика повышения уровня этой группы изучаемых белков на 60-й, 120-й и 180-й минуте наблюдения ( $P < 0,05$ ). На 40-й минуте происходит достоверное снижение уровня глобулинов на 17,97% ( $P < 0,05$ ). К 60-й минуте регистрируется резкое увеличение этого показателя на 37,14% ( $P < 0,05$ ). На 80-й минуте наблюдается существенное снижение содержания этой группы белков в плазме крови на 20% ( $P < 0,05$ ). К 120-й минуте вновь регистрируется возрастание показателя на 9,5% ( $P < 0,05$ ). Далее, на протяжении 60 минут наблюдения кинетическая кривая приобрела неколебательный характер. На 180-й минуте наблюдения произошло

незначительное увеличение уровня глобулинов на 4% ( $P < 0,05$ ). Периоды колебаний содержания группы глобулинов в плазме крови половозрелых интактных животных составляют 20 и 40 минут с амплитудой 10% от среднего ( $P < 0,05$ ).



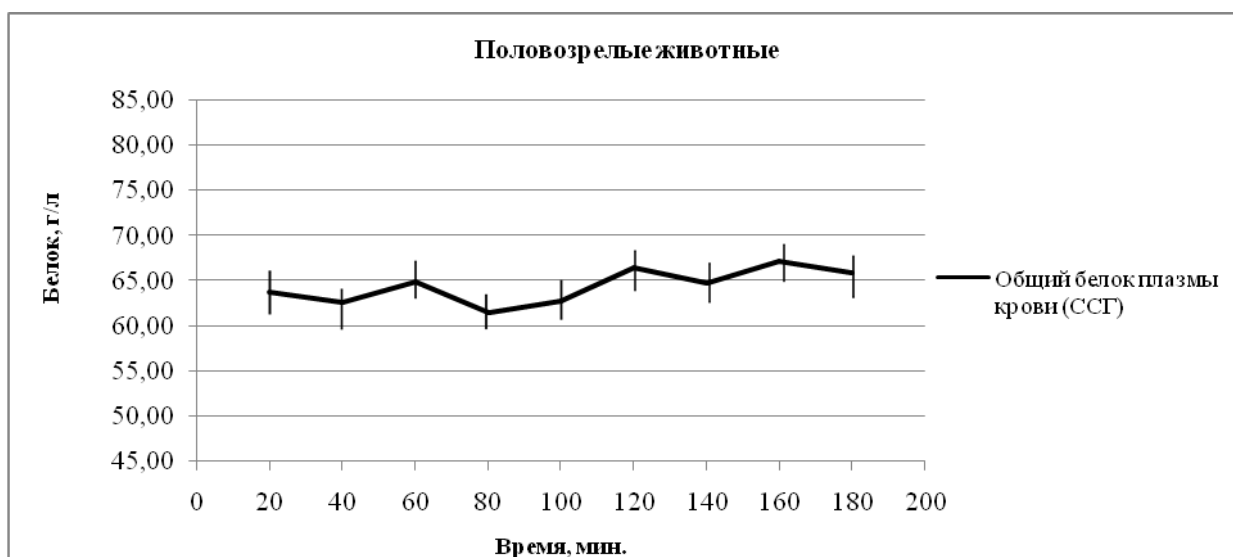
**Рис. 8** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови половозрелых интактных крыс

Колебания уровня альбумина находятся в противофазе по сравнению с ритмическими колебаниями глобулинов. На хронограмме (рис. 8) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в плазме крови с амплитудой 10,33% от среднего ( $P < 0,05$ ). Зарегистрировано 3 пика повышения содержания этого белка - на 40-й, 80-й и 160-й минуте наблюдения ( $P < 0,05$ ). Среднее содержание альбумина составило 32,63 г/л.

Таким образом, в плазме крови половозрелых интактных крыс отмечены статистически значимые окологасовые колебания содержания белков с периодом в 40 и 60 минут. Сглаживание кинетической кривой глобулинов говорит о более «экономной» функции белков плазмы крови этого возраста животных.

При хроническом воздействии природным сероводородсодержащим газом АГКМ, в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$  зарегистрированы выраженные

изменения в околочасовых ритмических колебаниях во всех изучаемых группах белков в плазме крови половозрелых животных.



**Рис. 9 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови половозрелых крыс при хроническом воздействии природным сероводородсодержащим газом АГКМ**

Так, при хронической ингаляции природным сероводородсодержащим газом происходит достоверное снижение содержания общего белка до 40-й минуты наблюдения, что на 11% ( $P < 0,05$ ) меньше нормы. Как показал анализ, на кинетической кривой отмечается 3 пика повышения уровня общего белка на 60-й, 120-й и 160-й минуте наблюдения (рис. 9).

На 60-й минуте произошло увеличение содержания общего белка на 3,7%, после чего вновь наблюдается его снижение к 80-й минуте на 5,2% ( $P < 0,05$ ). На 120-й минуте регистрируется достоверное повышение значения этого показателя на 6%, затем вновь происходит снижение содержания общего белка до 140-й минуты. Третий подъем уровня общего белка регистрируется на 160-й минуте наблюдения, достигая своего максимума – 67,2 г/л ( $P < 0,05$ ).

Анализ кинетической кривой показал, что среднее содержание общего белка в плазме крови половозрелых крыс в условиях хронического стресса составил 64,42 г/л, а амплитуда колебательных процессов соответствует 4,3% от среднего ( $P < 0,05$ ) с периодичностью в 40 и 60 минут.

На хронограмме (рис. 10) зарегистрирована динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови половозрелых животных при хронической ингаляции природного сероводородсодержащего газа АГКМ, в концентрации 90 мг/м<sup>3</sup>.

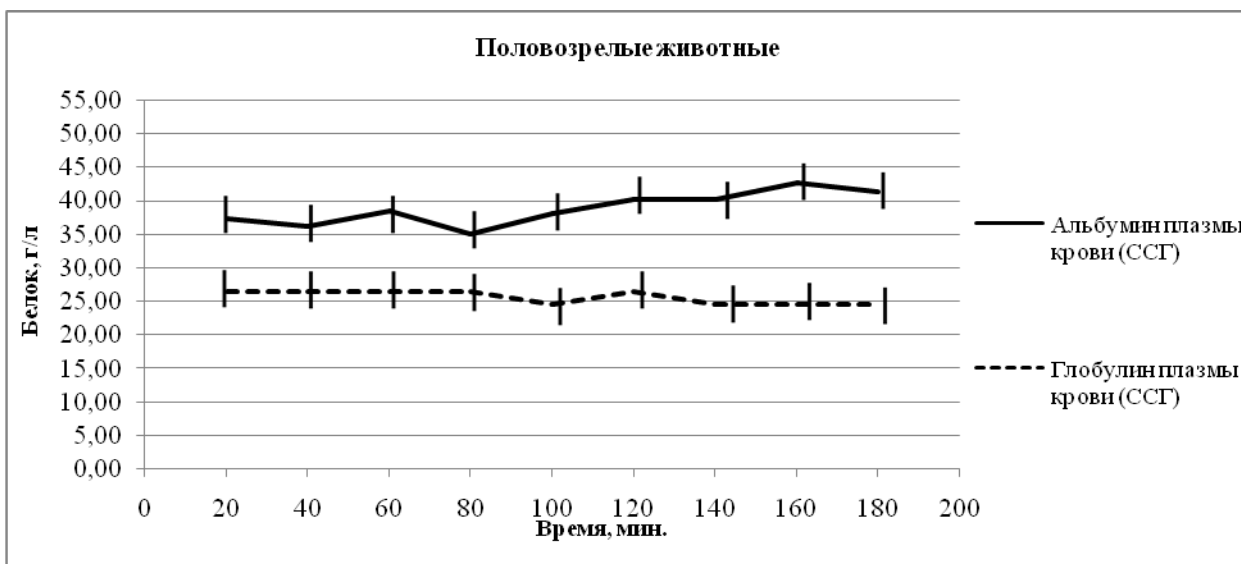
Характер кинетической кривой глобулинов более сглажен в сравнении с контролем. Среднее содержание этой группы белков составляет 25,6 г/л ( $P < 0,05$ ). На протяжении 80 минут наблюдения кинетическая кривая носит монотонный характер. На 100-й минуте произошло достоверное снижение уровня глобулинов на 6,8%, а затем к 120-й минуте наблюдения зарегистрировано увеличение содержания этой группы белков на 7,3% ( $P < 0,05$ ). К 140-й минуте вновь отмечено снижение показателя на 6,8% ( $P < 0,05$ ). В ходе дальнейшего наблюдения кинетическая кривая приобретает неколебательный, линейный характер. Амплитуда колебаний составила около 3% от среднего.

Анализ хронограммы содержания альбумина в плазме крови половозрелых животных в условиях хронического стресса в этой же возрастной группе показал, что среднее значение альбумина соответствует 38,82 г/л.

Зарегистрировано два статистически значимых пика снижения уровня содержания альбумина на 40-й и 80-й минуте, а так же два пика повышения его уровня на 60-й и 160-й минуте наблюдения ( $P < 0,05$ ). Максимальный подъем показателя альбумина регистрируется к 160-й минуте, при этом увеличение происходит на 6% ( $P < 0,05$ ).

Периоды колебаний содержания альбумина в плазме крови половозрелых крыс составляют 20 и 40 минут с амплитудой 9,74% от среднего ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, серосодержащие соединения вызывают выраженные хронобиологические нарушения в околочасовых колебаниях во всех изучаемых группах белков. По сравнению с контролем отмечается снижение метаболической активности в плазме крови половозрелых животных.



**Рис. 10** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови половозрелых крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ

Регистрируется незначительное уменьшение амплитуды колебательных процессов в сравнении с контролем: общего белка на 0,9% и альбумина на 0,6% от среднего значения, но произошло выраженное снижение амплитуды колебаний группы глобулинов на 7% (табл. 5). При анализе средних показателей отмечено снижение уровня общего белка на 10% ( $P < 0,05$ ) и группы глобулинов на 35% ( $P < 0,05$ ). Однако, в сравнении с контрольными значениями происходит увеличение среднего содержания альбумина на 19% (табл. 5). Зарегистрированное изменение ритмичности уровня альбумина связано с его основной функцией транспортного белка.

Таким образом, у половозрелых крыс подвергшихся токсическому воздействию динамика содержания общего белка и альбумина сохраняет окологоризонтальную периодичность с периодами в 40 и 60 минут в сравнении с контролем (табл. 5).

Так как, у половозрелых животных более высокий уровень адаптационных способностей к экзогенным повреждающим воздействиям, то ответная реакция организма становится более «экономной», что и проявляется в сглаживании кинетической кривой группы глобулинов.

На кинетической кривой (рис. 11) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови половозрелых животных, подвергшихся хронической ингаляции природного газа на фоне введения комплекса антиоксидантов.

Как показал анализ хронограммы, среднее содержание общего белка составляет 78,57 г/л, что на 9,3% выше среднего контрольного значения ( $P < 0,05$ ). За время наблюдения околочасовых колебаний отмечено 4 достоверных пика: на 20-й, 60-й, 120-й и 160-й минуте ( $P < 0,05$ ). К 160-й минуте регистрируется наибольшее количество общего белка в плазме крови, так же как и в группе интактных половозрелых крыс.

**Таблица 5**

Уровень содержания общего белка, альбумина и глобулинов в плазме крови половозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Плазма крови	Группы (n=60)	Мезор (г/л)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	71,86±1,7	5,2%	40 мин
	ССГ	64,42±6,0*	4,3%	40-60 мин
	ССГ+АО	78,57±3,7 <sup>◇#</sup>	5,1%	40-60 мин
Альбумин	К	32,63±0,1	10,33%	40-60 мин
	ССГ	38,82±3,4*	9,74%	20-40 мин
	ССГ+АО	32,01±0,4 <sup>◇#</sup>	5,9%	40 мин
Глобулины	К	39,25±4,9	10%	20-40 мин
	ССГ	25,6±4,8*	3%	80 мин
	ССГ+АО	46,56±9,3 <sup>◇#</sup>	9,1%	40-60 мин

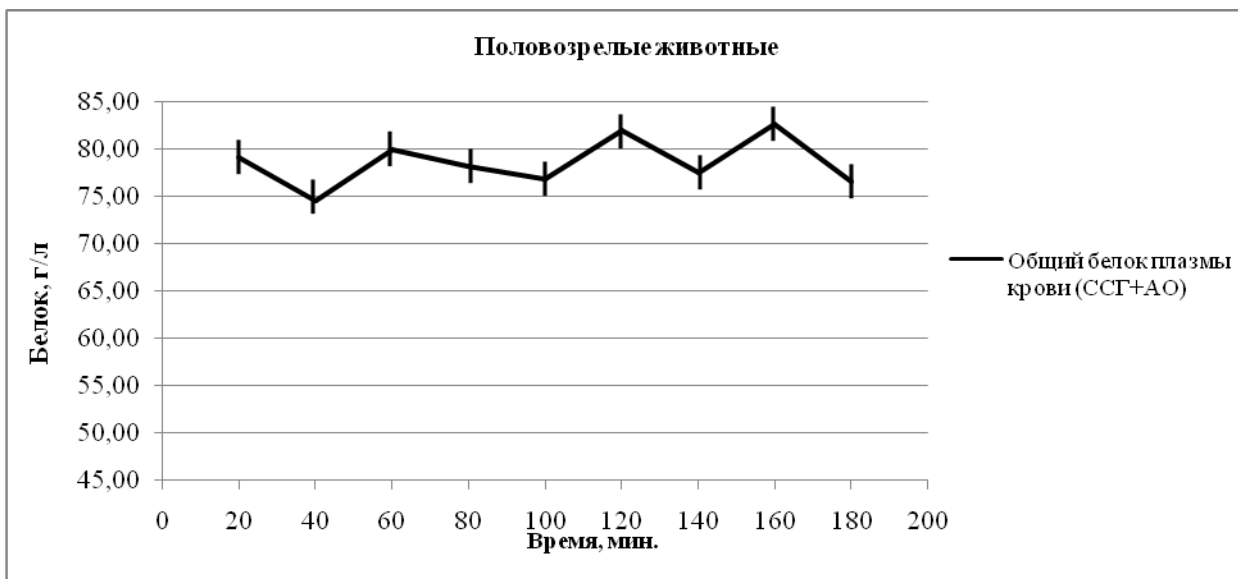
*Примечание:* \*  $p < 0,05$  в сравнении с контролем; <sup>◇</sup>  $p < 0,05$  в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; <sup>#</sup>  $p < 0,05$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

На фоне введения антиоксидантов отмечено повышение максимального показателя содержания общего белка на 9,3% в сравнении с контролем ( $P < 0,05$ ). Периоды колебаний составляют 40 и 60 минут (табл. 5), амплитуда соответствует 5,1% от среднего ( $P < 0,05$ ).

На хронограмме (рис. 12) околочасовой ритм содержания глобулинов восстанавливается, что вероятно, говорит о корригирующем действии

применяемого комплекса антиоксидантов. За 180 минут наблюдения нами зарегистрировано 3 достоверных пика повышения уровня глобулинов на 60-й, 120-й и 160-й минуте. Среднее содержание этой группы белков составило 46,56 г/л, что на 18,6% выше, чем у интактных половозрелых животных (табл. 5). Амплитуда колебаний глобулинов соответствует 9,1% от среднего с сохранением околичасовой периодичности.

Анализ хронограммы содержания альбумина (рис. 12) в плазме крови половозрелых крыс при хронической ингаляции природного газа на фоне введения комплекса антиоксидантов показал 2 пика повышения уровня альбумина.



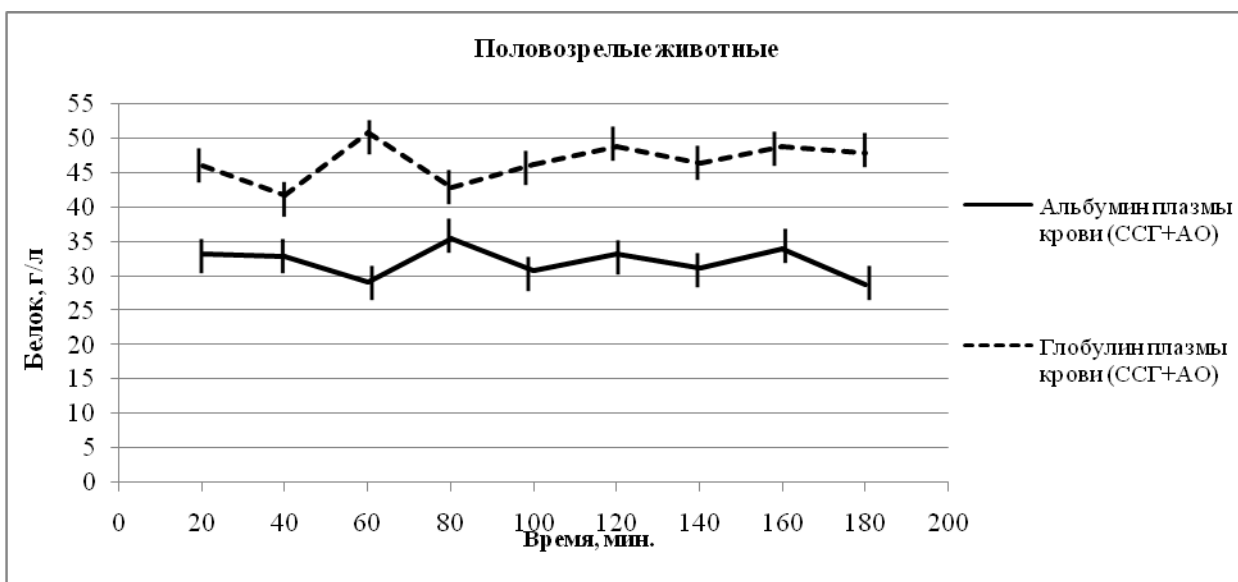
**Рис. 11 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

Так, на 80-й минуте происходит достоверное увеличение содержания альбумина на 21,6%; на 100-й минуте зарегистрировано снижение значения этого показателя на 13,3%; к 160-й минуте наблюдения уровень альбумина вновь повышается на 9%. Среднее содержание альбумина составило 32,01г/л. Амплитуда колебательных процессов соответствует 5,9% от среднего с периодом колебаний в 40 минут.



Таким образом, в условиях хронического стресса на фоне введения комплекса антиоксидантов (тималина и альфа-токоферола ацетата) у половозрелых животных происходят неоднозначные хронобиологические изменения околичасовых ритмов во всех изучаемых группах белков плазмы крови.

На фоне введения комплекса антиоксидантов отмечается повышение процессов обмена белков в плазме крови. За 180 минут наблюдения нами зарегистрировано достоверное увеличение содержания общего белка на 22% и глобулинов на 82% от среднего, но снижение уровня альбумина на 17,5%, по сравнению с группой половозрелых крыс, подвергшихся воздействию природным серосодержащим газом (табл. 5).



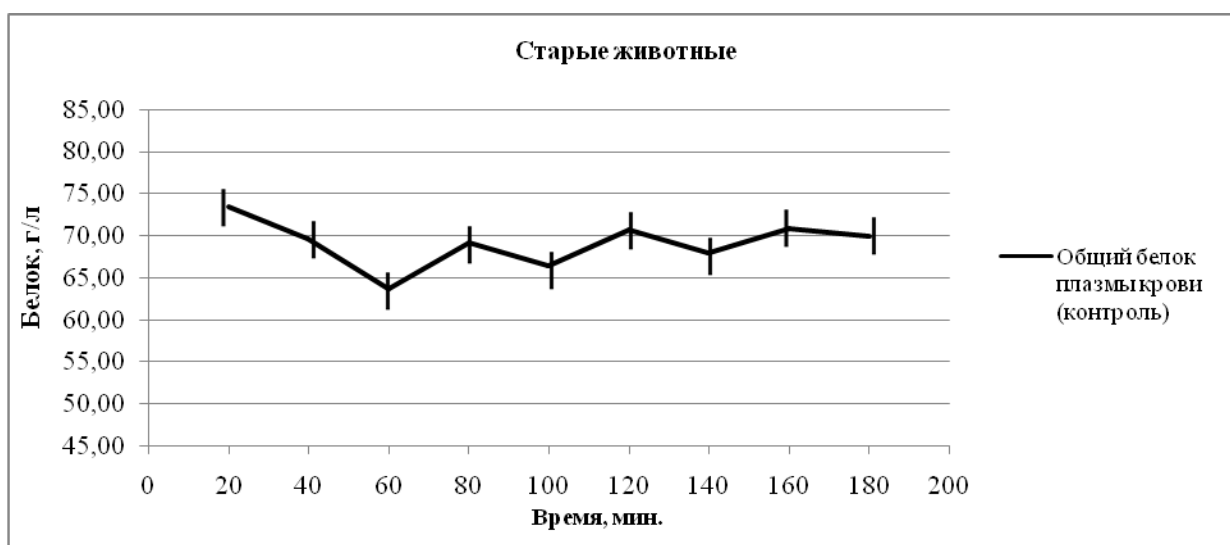
**Рис. 12** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов

В сравнении группы экспериментальных животных на фоне введения антиоксидантов с группой интактных половозрелых крыс отмечается достоверное увеличение содержания общего белка на 9,3% и глобулинов на 18,6%, но снижение уровня альбумина на 2% от среднего (табл. 5). Период ритмического процесса изучаемых белков при этом практически не

изменяется. Кроме того, отмечено восстановление окологлобулинового ритма содержания глобулинов, что вероятно, говорит о корригирующем действии применяемого комплекса антиоксидантов в отношении этой группы белков.

### 3.3 Старые животные

Как показал анализ кинетической кривой (рис. 13), среднее содержание общего белка в плазме крови старых интактных крыс составил 69,07 г/л и за время наблюдения отмечается 4 достоверных пика повышения его уровня: на 20-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах.



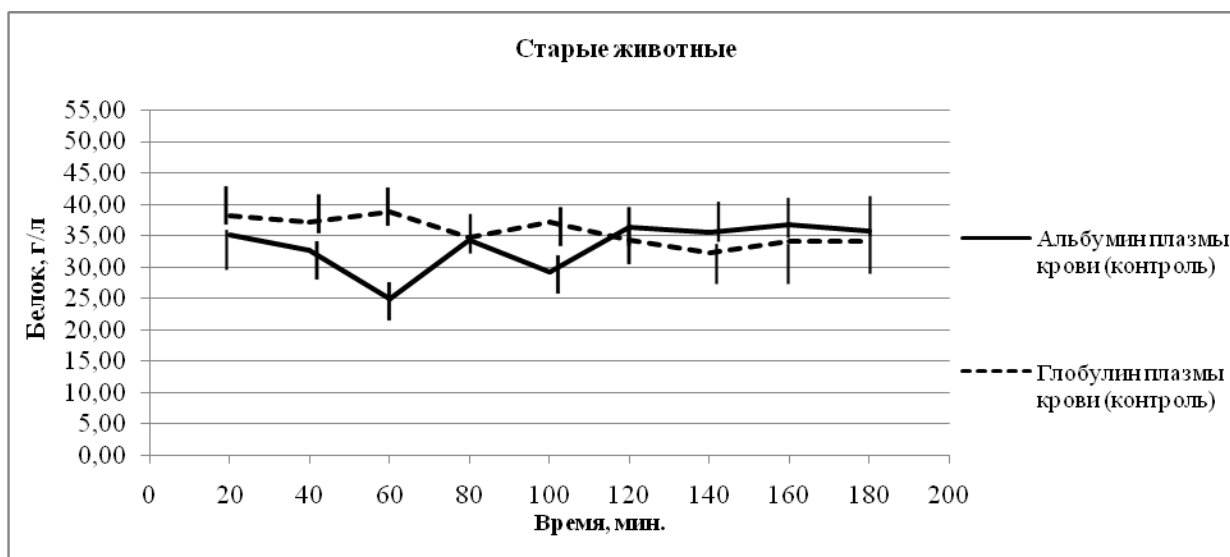
**Рис. 13 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови старых интактных крыс**

На 80-й минуте происходит увеличение содержания общего белка на 8,5%, после чего вновь регистрируется резкое его снижение к 100-й минуте наблюдения на 3,9%. На 120-й минуте отмечается достоверное повышение содержания этого показателя 6,5%. Затем происходит снижение уровня общего белка плазмы крови до 140-й минуты на 4%, После чего вновь регистрируется его подъем к 160-й минуте наблюдения на 4,4%.

Амплитуда колебательных процессов содержания общего белка в плазме крови у старых интактных животных составила 6,3% от среднего значения с периодом колебания в 40 минут.

На хронограмме (рис. 14) представлена динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови старых интактных животных.

Среднее содержание глобулинов составляет 35,66 г/л. На кинетической кривой регистрируется 3 достоверных пика повышения количества этой группы белков в плазме крови на 60-й, 100-й и 160-й минутах наблюдения.

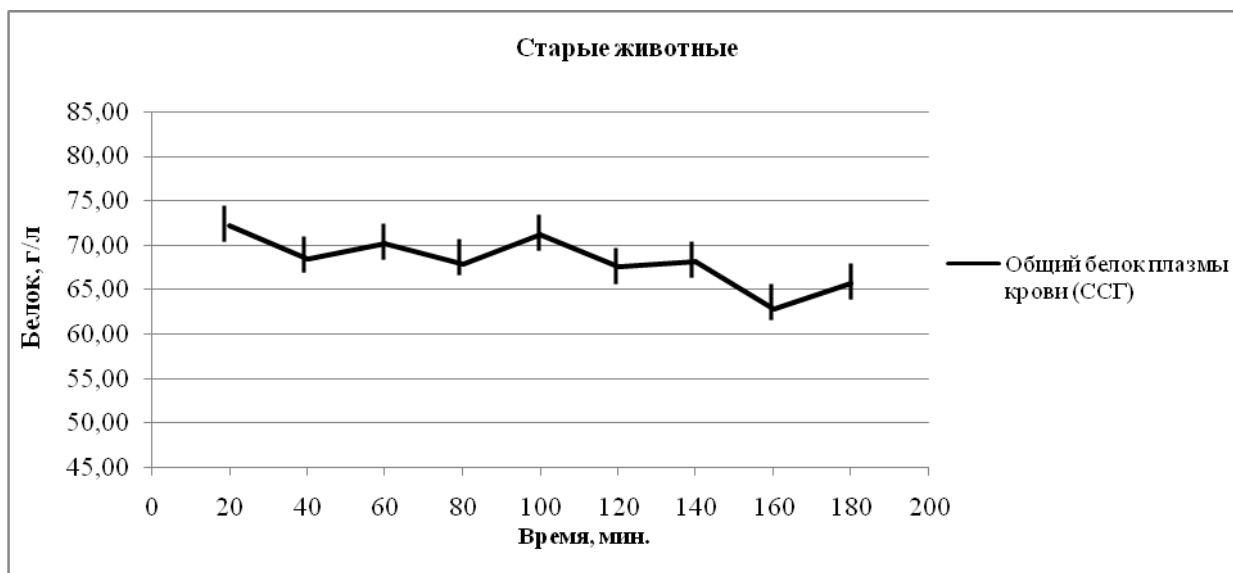


**Рис. 14 Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови старых интактных крыс**

На 40-й минуте происходит достоверное снижение уровня глобулинов на 3%. К 60-й минуте регистрируется увеличение этого показателя на 4,6%. На 80-й минуте наблюдения вновь происходит снижение содержания этой группы белков на 10,3%. К 100-й минуте и 160-й минуте вновь регистрируется возрастание значения этого показателя соответственно на 7% и на 5,6%. Амплитуда колебаний содержания группы глобулинов в плазме крови старых интактных крыс соответствует около 9% от среднего с периодом колебаний в 40 и 60 минут.

Анализ кинетической кривой содержания альбумина в плазме крови старых интактных животных показал, что на хронограмме (рис. 14) выявлен околочасовой ритм содержания альбумина с амплитудой 10% от среднего и периодом колебания в 40 минут. Нами зарегистрировано 4 достоверных пика повышения уровня альбумина на 20-й, 80-й, 120-й и 160-й минуте наблюдения. На 20-й минуте содержание альбумина на 5,3% выше среднего

значения. Затем, происходит снижение этого показателя к 60-й минуте на 23,6%. На 80-й минуте наблюдения вновь отмечается увеличение содержания альбумина на 37,8% и резкое уменьшение его к 100-й минуте на 14,9%. Максимальное содержание альбумина наблюдается к 160-й минуте, где увеличение его уровня происходит на 3,4%. Среднее значение этого белка составило 33,42 г/л.



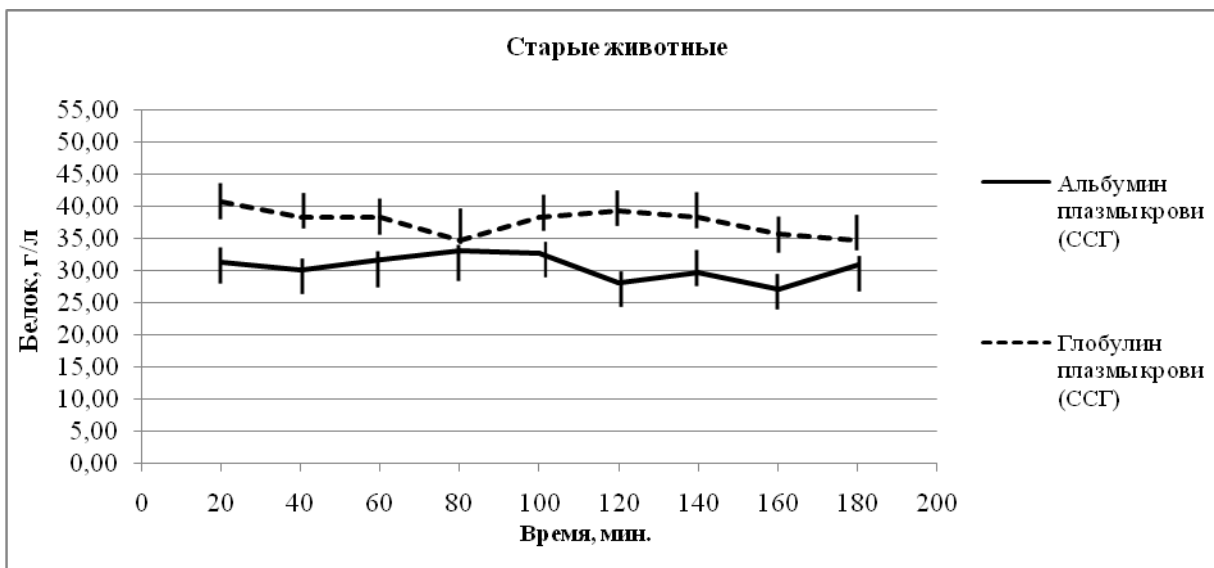
**Рис. 15 Ритмические колебания содержания общего белка в плазме крови старых крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

При хронической ингаляции природного газа АГКМ зарегистрированы выраженные изменения околочасовых осцилляций во всех изучаемых группах белков в плазме крови старых крыс (рис. 15, 16), при этом кинетические кривые отражающие интенсивность колебаний уровня белков имеют ритмический характер, хотя и происходит их модификация.

На хронограмме (рис. 15) зарегистрировано 4 достоверных пика повышения уровня общего белка в плазме крови на 20-й, 60-й, 100-й и 180-й минутах наблюдения. На 20-й минуте увеличение содержания общего белка от среднего значения составляет около 5,5%. Дальнейшее повышение этого показателя регистрируется к 60-й минуте наблюдения на 2,5%. Затем отмечается снижение количества общего белка плазмы крови на 3,3%. На 100-й минуте наблюдения околочасовых колебаний вновь регистрируется

третий пик подъема уровня содержания этого белка на 5%. К 160-й минуте наблюдения количество общего белка плазмы крови снижается на 7,8%. Вновь повышение изучаемого показателя этого белка на 4,6% регистрируется к 180-й минуте наблюдения. Среднее содержание общего белка плазмы крови старых крыс соответствует 68,23 г/л. Период колебаний 40 минут, амплитуда составляет 5,8% от среднего.

На хронограмме (рис. 16) выявленные нами колебания содержания альбумина и глобулинов в плазме крови старых животных в условиях хронического стресса могут быть охарактеризованы как окологасовые с амплитудой около 8% от среднего.



**Рис. 16 Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови старых крыс, подвергшихся хроническому воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

Среднее содержание глобулинов составляет 37,67 г/л, что на 5,6% выше среднего показателя контрольных значений этой же группы животных (табл. 6). Нами зарегистрировано 3 достоверных пика повышения уровня глобулинов в плазме крови на 20-й, 100-й и 120-й минуте наблюдения. К 40-й минуте происходит снижение содержания этих белков на 5,9%. На 100-й минуте отмечается увеличение показателя на 10%, а к 120-й минуте наблюдения регистрируется третий подъем - на 2,6%. Затем, на протяжении дальнейших 60 минут происходит выраженное снижение уровня глобулинов,

достигая минимума к 180-й минуте наблюдения. Амплитуда колебаний этой группы белков составила около 8% от среднего с периодами в 60 и 40 минут.

Анализ кинетической кривой (рис. 16) уровня альбумина в плазме крови старых крыс в условиях хронической ингаляции природного газа показал, что среднее содержание альбумина составило 30,57 г/л, что на 8,5% ниже среднего контрольного значения (табл. 6).

На хронограмме выявлен окологосударственный ритм содержания альбумина с амплитудой около 8% от среднего с периодами колебаний в 60 и 40 минут. Нами зарегистрировано 4 достоверных пика повышения уровня альбумина на 20-й, 80-й, 140-й и 180-й минутах наблюдения.

К 80-й минуте отмечается увеличение его содержания на 4%, к 140-й минуте регистрируется третий подъем на 6% и к 180-й минуте показатель возрастает на 14%.

**Таблица 6**

Уровень содержания общего белка, альбумина и глобулинов в плазме крови старых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

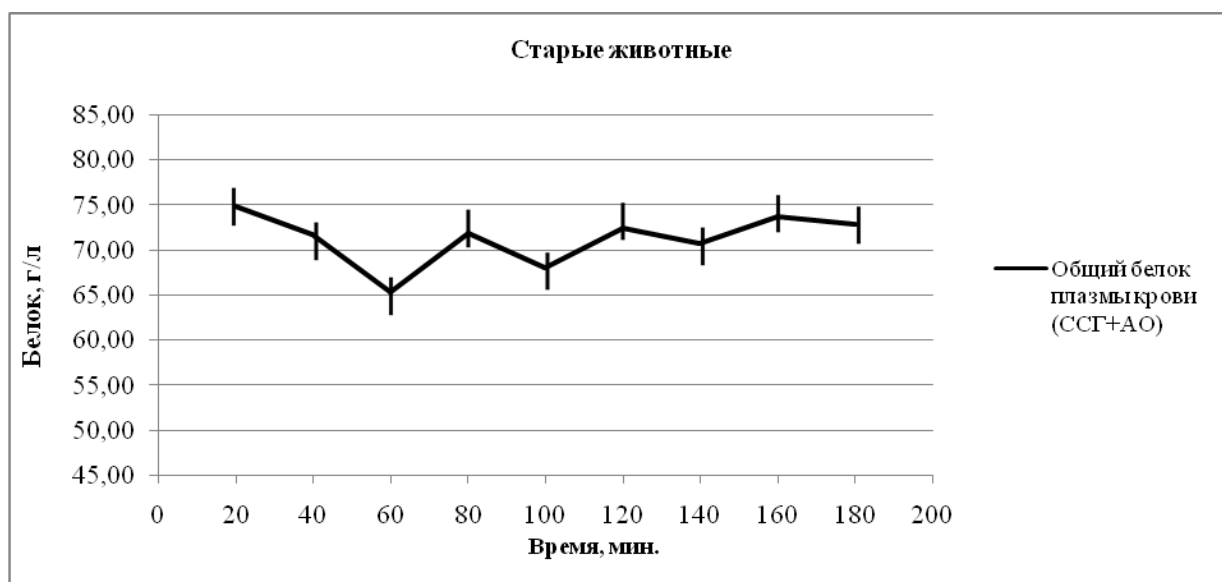
Плазма крови	Группы (n=60)	Мезор (г/л)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	69,07±0,6	6,3%	40 мин
	ССГ	68,23±0,5*	5,8%	40 мин
	ССГ+АО	71,32±1,5 <sup>0#</sup>	5%	40 мин
Альбумин	К	33,42±1,4	10%	40 мин
	ССГ	30,57±0,3*	8%	40-60 мин
	ССГ+АО	31,16±0,3 <sup>0#</sup>	11,68%	40-60 мин
Глобулины	К	35,66±1,4	9%	40-60 мин
	ССГ	37,67±0,9*	8%	40-60 мин
	ССГ+АО	40,17±1,8 <sup>0#</sup>	3,6%	60-80 мин

*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; <sup>#</sup>p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Таким образом, в условиях хронического стресса в плазме крови старых крыс регистрируется снижение амплитуды колебательных процессов в сравнении с контролем: общего белка на 0,5%, группы глобулинов на 1% и альбумина на 2% от среднего. Кроме того, в сравнении с контролем

отмечается снижение содержания в плазме крови общего белка и альбумина соответственно на 1,2% и на 8,5%, но повышение уровня глобулинов на 5,6% от среднего (табл. 6).

На хронограммах (рис. 17, 18) зарегистрированы ритмические колебания изучаемых групп белков в плазме крови старых животных, подвергшихся хроническому воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ, в концентрации 90 мг/м<sup>3</sup> на фоне введения комплекса антиоксидантов (тималина и альфа-токоферола ацетата). Они могут быть охарактеризованы как окологасовые с периодами колебаний в 40 и 60 минут.

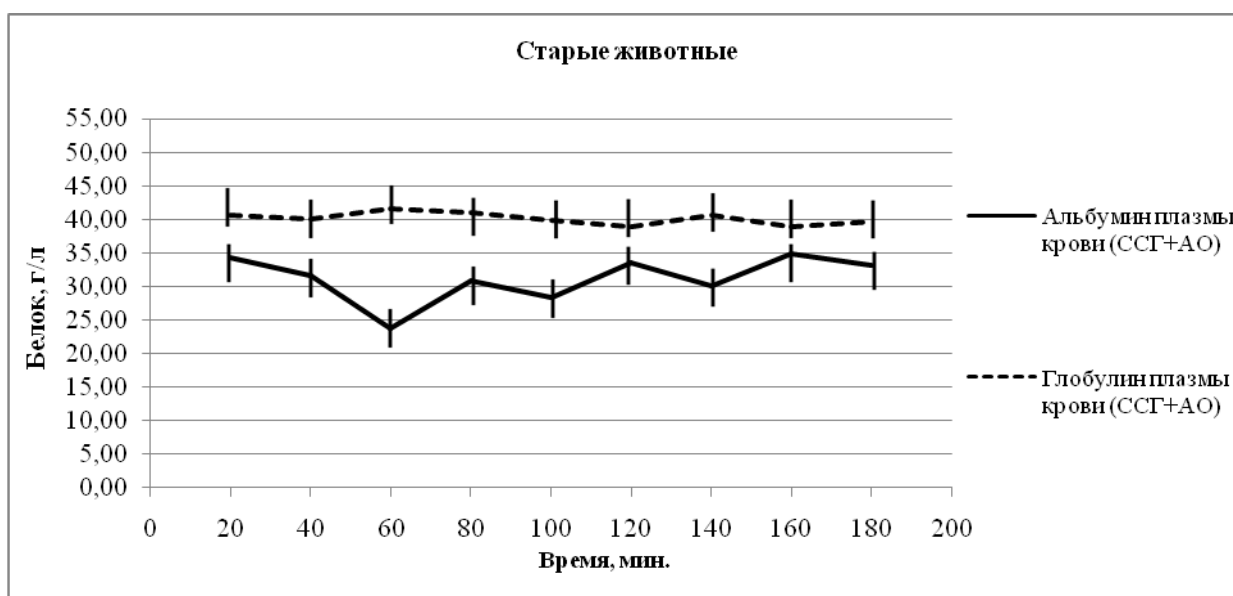


**Рис. 17 Динамика содержания общего белка в плазме крови старых крыс, подвергшихся хроническому воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

Как показал анализ кинетической кривой (рис. 17), амплитуда колебаний общего белка в плазме крови старых животных в условиях хронического стресса на фоне введения комплекса антиоксидантов составила около 5% от среднего с сохранением окологасовой периодичности в 40 минут. Среднее содержание общего белка составило 71,32 г/л, что на 4,5% выше среднего в условиях стресса и на 3,3% выше среднего контрольного значения (табл. 6).

За время наблюдения отмечается 4 достоверных пика повышения его уровня на 20-й, 80-й, 120-й и 160-й минуте. Максимальное значение общего белка плазмы крови приходится на 20-ю минуту, что на 5% выше среднего. Дальнейшее увеличение этого показателя на 4% регистрируется к 80-й минуте наблюдения. Затем отмечается снижение количества общего белка плазмы крови на 5,3%. На 120-й минуте наблюдения околичасовых колебаний вновь регистрируется третий пик подъема уровня содержания этого белка на 6,5%. К 160-й минуте наблюдения происходит четвертый пик подъема показателя общего белка плазмы крови на 4%.

Анализ колебаний содержания глобулинов (рис. 18) в плазме крови у старых крыс подгруппы ССГ+АО показал, что среднее значение соответствует 40,17 г/л. Это на 12,6% выше среднего контрольного значения и на 6,6% выше среднего в условиях стресса этой же группы животных (табл. 6). Амплитуда колебательного процесса составила 3,6% от среднего.



**Рис. 18** Динамика содержания альбумина и глобулинов в плазме крови старых крыс подгруппы ССГ+АО

Зарегистрировано 2 достоверных пика повышения содержания этой группы белков в плазме крови на 60-й и 140-й минутах наблюдения. Первый подъем на 3,7% к 60-й минуте достигает максимального значения. Второй

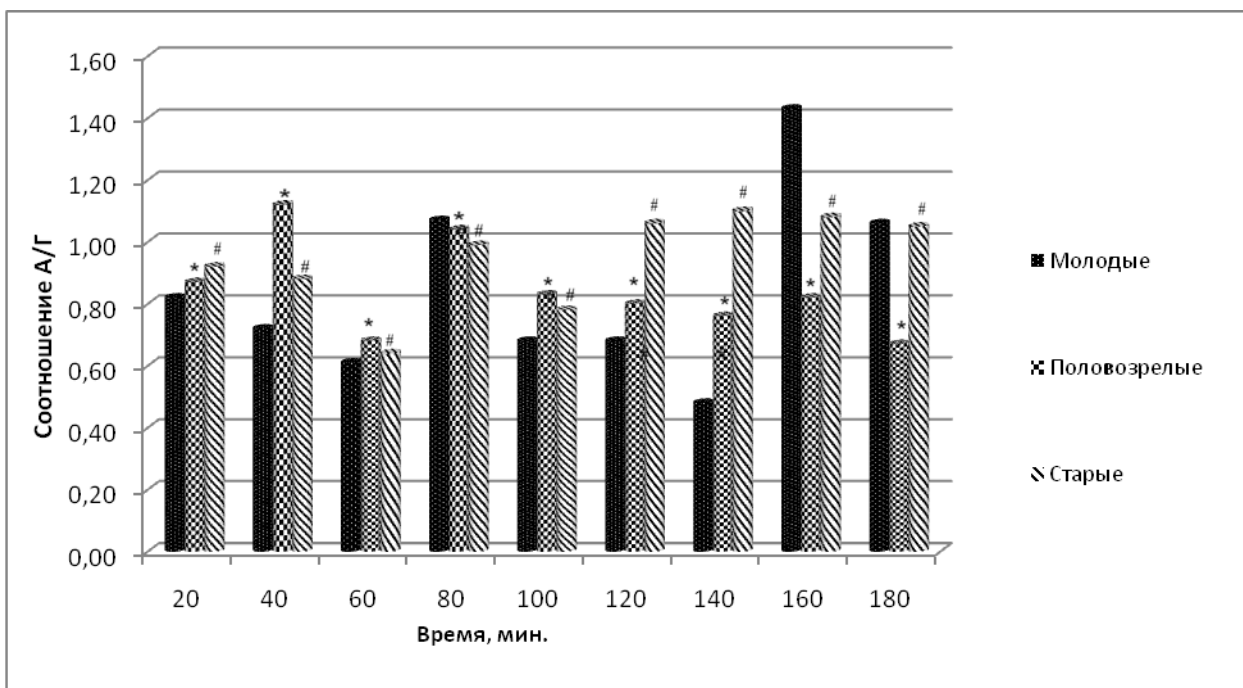


пик увеличения содержания глобулинов на 4,6% регистрируется к 140-й минуте.

Анализ кинетической кривой (рис. 18) содержания альбумина в плазме крови старых животных в условиях хронической ингаляции природного газа на фоне введения комплекса антиоксидантов показал, что средний уровень альбумина составляет 31,16 г/л. Это ниже среднего контрольного значения на 6,8%, но выше, чем в подгруппе ССГ на 2% (табл. 6).

На хронограмме выявлен окологосударственный ритм содержания альбумина с амплитудой 11,68% от среднего значения и зарегистрировано 4 пика повышения его уровня в плазме крови на 20-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах наблюдения. К 20-й минуте показатель на 9,8% выше среднего. Дальнейшее увеличение содержания альбумина регистрируется к 80-й минуте наблюдения на 29%. Затем отмечается снижение его количества на 8%. К 120-й минуте наблюдения окологосударственных колебаний вновь регистрируется третий пик подъема уровня этого белка на 18,7%. К 160-й минуте наблюдения содержание альбумина достигает максимума, так как увеличение показателя происходит на 15,6%.

Таким образом, у старых крыс по мере становления адаптационных механизмов к экзогенному токсическому воздействию на фоне введения антиоксидантов ответная реакция проявляется в снижении амплитуды колебаний общего белка и глобулинов в сравнении, как с контролем, так и при сравнении с подгруппой животных, подвергшихся стрессу. В сравнении с контролем регистрируется уменьшение амплитуды колебаний общего белка на 1,3% и глобулинов на 6%. В сравнении с подгруппой животных, находящихся в условиях стресса амплитуда колебаний общего белка ниже на 0,8% и глобулинов на 4,4% от среднего. Кроме того, на фоне введения антиоксидантов наблюдается сглаживание кинетической кривой содержания глобулинов.



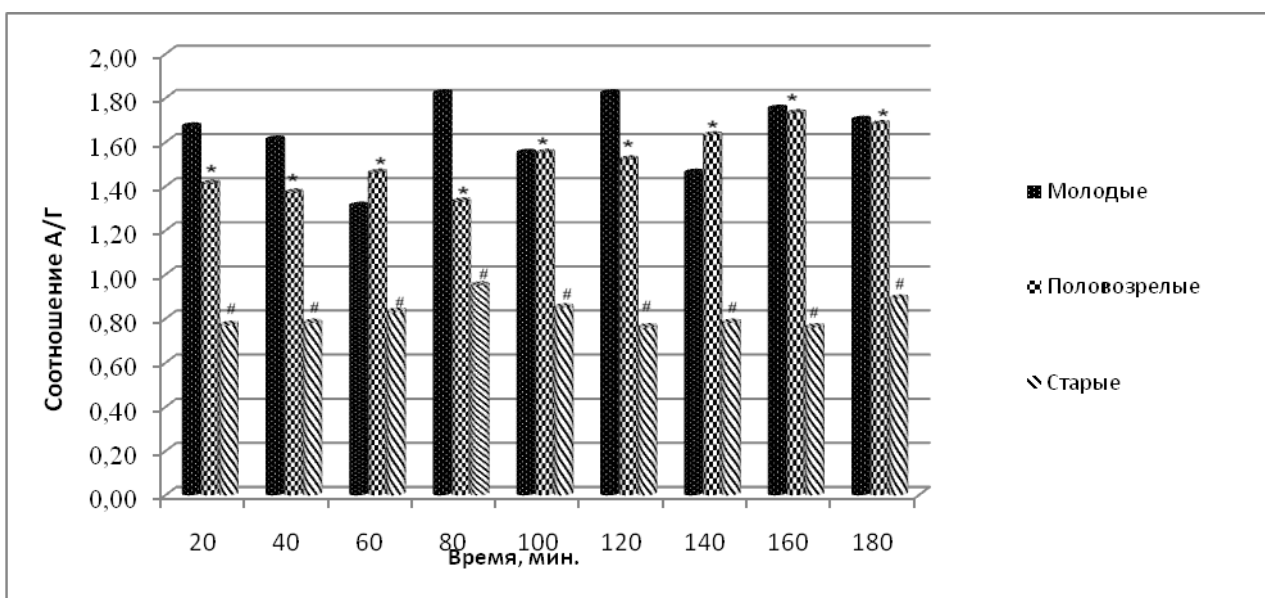
**Рис. 19 Соотношение уровня содержания альбумина к глобулинам плазмы крови в онтогенезе у интактных крыс**

*Примечание: \*и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Возможно, это связано с истощением компенсаторных возможностей этой возрастной группы животных, а так же, вероятно, с происходящей у них в организме инволюцией тимуса.

В заключении можно отметить, что серосодержащие соединения при хронической ингаляции природного газа АГКМ во всех группах животных по сравнению с контролем вызывают модификацию околичасовых осцилляций изучаемых белков плазмы крови, проявляющейся в снижении амплитуды колебательного процесса и в изменении набора периодов колебаний. Зарегистрированные перестройки временной организации общего белка, альбумина и глобулинов плазмы крови являются важнейшим компонентом адаптационного механизма на действие экзотоксиканта.

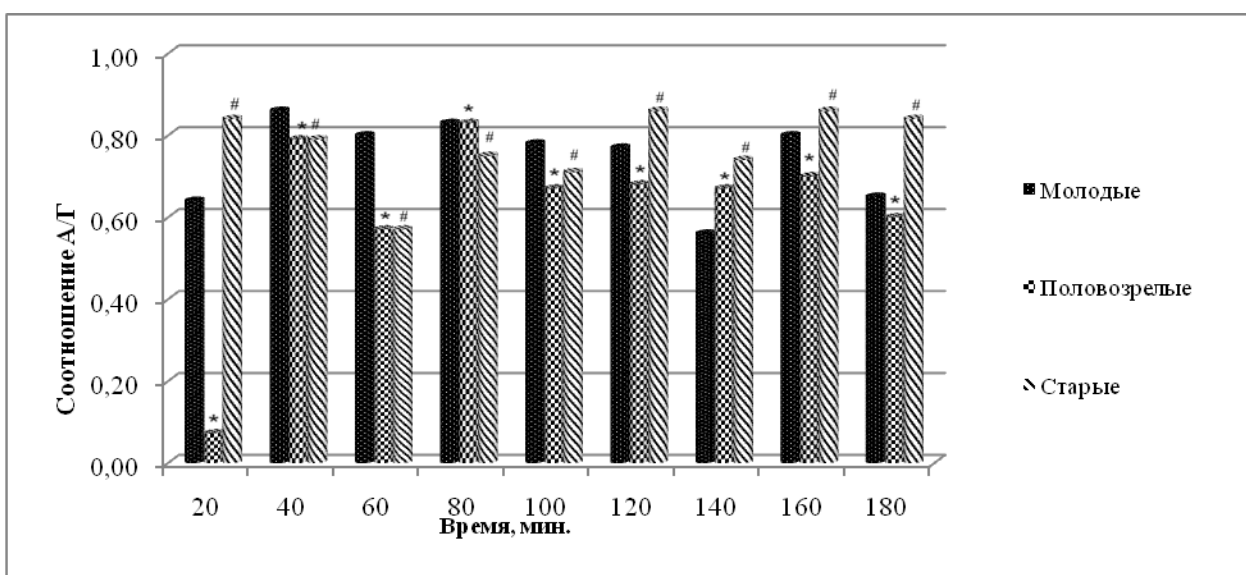
Рассматривая возрастные особенности содержания изучаемых белков плазмы крови (рис. 19, 20, 21) необходимо отметить, что более выраженные изменения в модификации ритмических кривых общего белка и глобулинов выявлены у молодых и старых животных, как в контроле, так и в условиях эксперимента.



**Рис. 20** Соотношение уровня содержания альбумина к глобулинам плазмы крови крыс в онтогенезе в условиях воздействия ССГ

Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Комплексное введение антиоксидантов (тималин + витамин Е) обладает выраженным адаптогенным действием, повышая резистентность изучаемых белков плазмы крови крыс всех возрастных групп к воздействию хронической ингаляции природного газа.



**Рис. 21** Соотношение уровня содержания альбумина к глобулинам плазмы крови крыс в онтогенезе в условиях воздействия ССГ+АО

Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Восстановление околочасового ритма содержания глобулинов у молодых и половозрелых животных, свидетельствует о корригирующем действии комплекса антиоксидантов в отношении этой группы белков.

На основании вышеизложенного, можно сделать вывод о том, что в коррекции околочасовых колебаний альфа-токоферолом ацетатом и тималином на фоне токсического стресса нуждаются в большей степени неполовозрелые животные и крысы старшей возрастной группы.

## **Глава 4. Хронобиологические особенности околочасовых ритмических колебаний общего белка и альбумина в органах иммунной системы крыс**

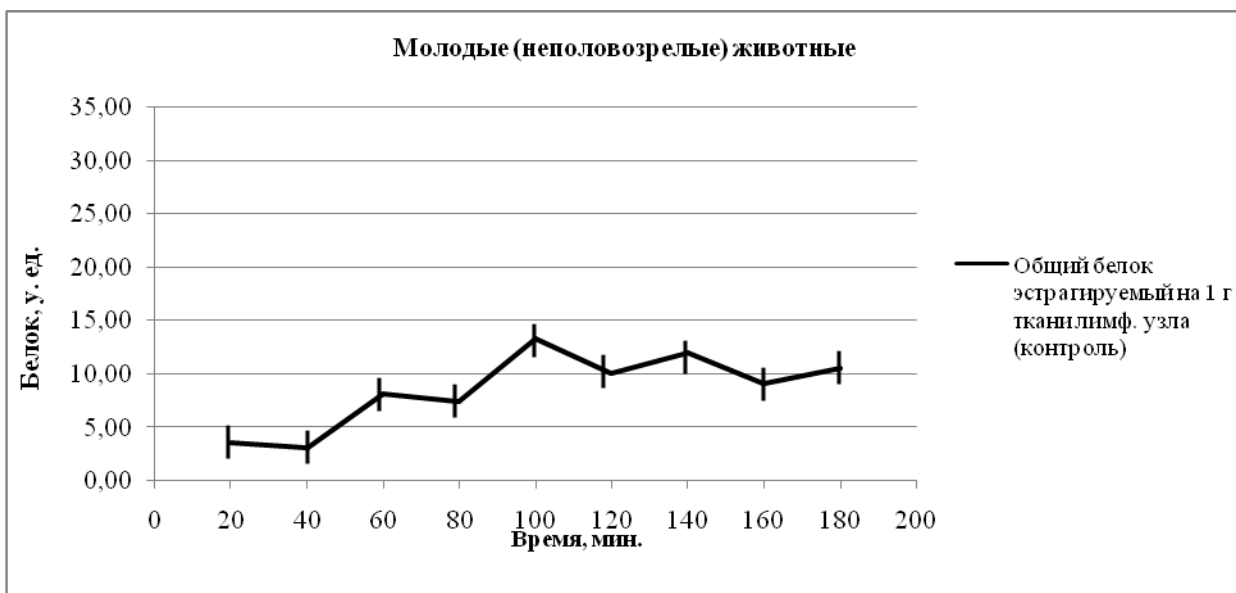
### **4.1. Онтогенетические аспекты околочасовых клеточных ритмов изучаемых белков в тканях лимфатических узлов**

#### **4.1.1 Молодые (неполовозрелые) животные**

На кинетической кривой (рис. 22) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в паховых лимфатических узлах молодых интактных крыс и выявлено четыре достоверных пика увеличения его уровня на 60-й, 100-й, 140-й и 180-й минутах наблюдения. Как показал анализ хронограммы, среднее содержание общего белка составляет 8,6 условных единиц. К 60-й минуте наблюдения происходит повышение его уровня до 8,1 условной единицы. На 100-й минуте регистрируется второй достоверный пик подъема этого показателя до 13,4 условных единиц, достигая максимального значения. Через 20 минут наблюдения происходит снижение количества общего белка до 10,1 сравнимых единиц. Затем содержание общего белка повышается еще дважды - до 12,0 условных единиц к 140-й минуте и к 180-й минуте наблюдения до 10,7 сравнимых единиц. Период колебаний общего белка в ткани паховых лимфатических узлов составил 40 минут с амплитудой около 56% от среднего.

На хронограмме (рис. 23) выявлен околочасовой ритм содержания альбумина в паховых лимфатических узлах молодых интактных крыс с амплитудой около 79% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

Нами зарегистрировано пять достоверно высоких пика содержания альбумина. На 40-й минуте наблюдения происходит увеличение его уровня до 1,0 условной единицы. К 60-й минуте вновь регистрируется повышение этого показателя до 2,4 условных единиц. Затем содержание альбумина увеличивается еще дважды – на 100-й и 140-й минутах до 1,6 и 1,5 соответственно сравнимых единиц. Пятый пик подъема уровня этого белка регистрируется к 180-й минуте, достигая максимума, когда показатель увеличивается до 2,5 сравнимых единиц.



**Рис. 22** Динамика содержания общего белка в паховых лимфатических узлах молодых (неполовозрелых) интактных крыс

Среднее содержание альбумина в паховых лимфатических узлах молодых интактных животных составляет 1,4 условных единиц.

В условиях токсического стресса среднее содержание общего белка в тканях паховых лимфоузлов молодых крыс соответствует 6,3 условных единиц. В течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка на 40-й, 80-й, 100-й и 160-й минутах (рис. 24).



**Рис. 23** Динамика содержания альбумина в паховых лимфатических узлах молодых (неполовозрелых) интактных крыс

На 40-й минуте показатель увеличивается до 9,3 сравнимых единиц, затем количество общего белка снижается до 2,3 условных единиц, достигая минимума.

На 80-й и 100-й минуте наблюдения вновь регистрируется подъем уровня содержания общего белка в ткани до 6,8 и 9,8 соответственно условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения показатель вновь снижается, достигая 5,2 условных единиц. К 160-й минуте, содержание общего белка вновь возрастает до 6,1 условных единиц. Таким образом, в условиях хронического стресса периоды колебаний общего белка в тканях лимфатических узлов составили 20 и 40 минут с амплитудой около 55,6% от среднего.

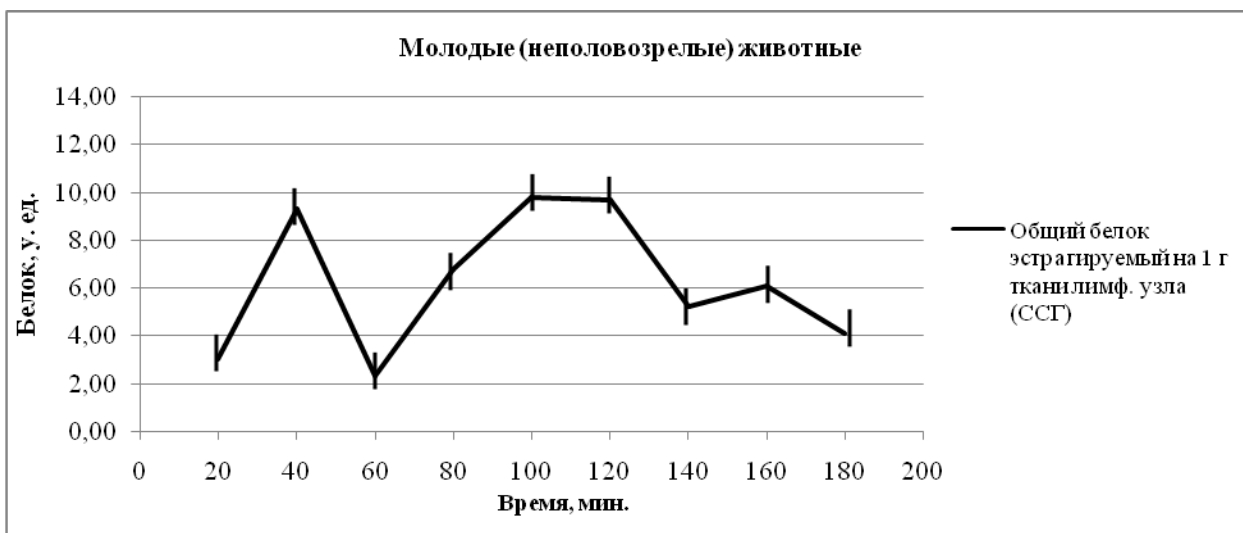
**Таблица 7**

Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани паховых лимфатических узлов неполовозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Лимфатические узлы	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	8,6±1,9	56%	40 мин
	ССГ	6,3±1,1*	55,6%	20-40 мин
	ССГ+АО	8,4±1,7 <sup>◇</sup> #	54%	20-40 мин
Альбумин	К	1,4±0,6	76%	20-40 мин
	ССГ	0,3±0,1*	93%	20-40 мин
	ССГ+АО	1,5±0,7 <sup>◇</sup> #	67%	40-60 мин

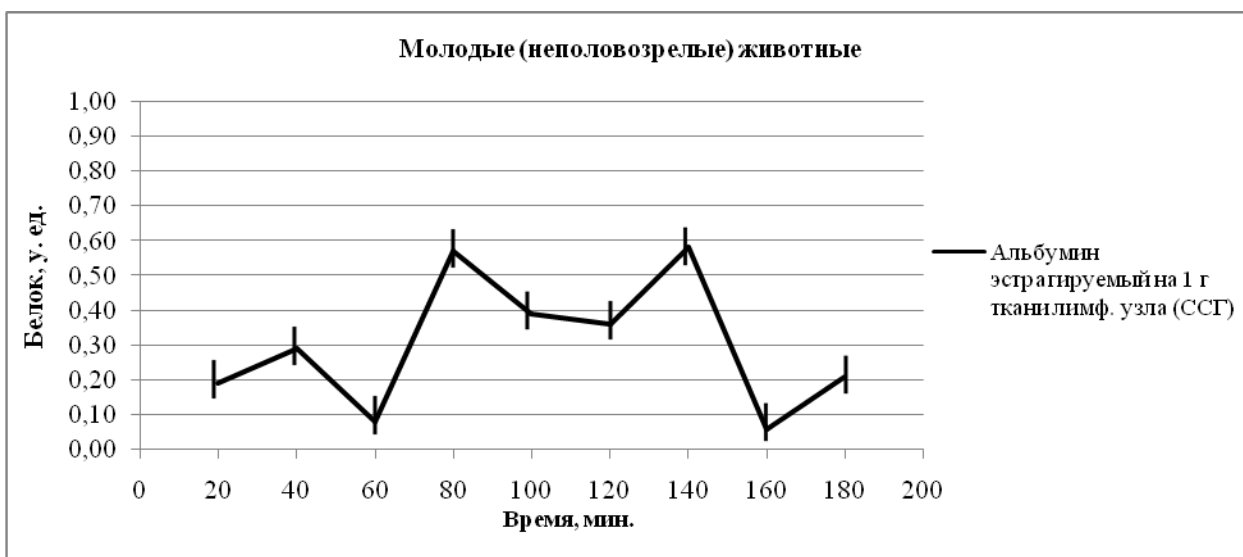
*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>◇</sup> p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

При анализе хронограммы (рис. 25) зарегистрировано четыре достоверных пика повышения уровня альбумина на 40-й, 80-й, 140-й и 180-й минутах наблюдения. К 40-й минуте происходит увеличение альбумина до 0,29 условных единиц, к 60-й минуте резко снижается до 0,08 сравнимых единиц. Затем содержание альбумина повышается еще дважды на 80-й и 140-й минутах наблюдения, достигая максимального уровня, когда показатель повышается до 0,58 условных единиц.



**Рис. 24 Ритмические колебания содержания общего белка в лимфатических узлах молодых (неполовозрелых) крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

К 160-й минуте регистрируется резкое снижение показателя до 0,06 условных единиц. На 180-й минуте эксперимента вновь происходит увеличение количества альбумина до 0,21 условной единицы. Среднее содержание альбумина в ткани соответствует 0,3 условных единиц, с периодами колебаний в 20 и 40 минут. Амплитуда колебательных процессов составила около 93% от среднего.



**Рис. 25 Динамика содержания альбумина в лимфатических узлах молодых (неполовозрелых) крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ**



Таким образом, на представленных хронограммах нами зарегистрировано сохранение окологасовой периодичности содержания общего белка и альбумина в тканях паховых лимфатических узлов молодых животных в условиях хронической ингаляции природного газа. Наблюдается при этом выраженное угнетение синтеза изучаемых белков. В сравнении с контролем при токсическом воздействии происходит снижение содержания общего белка на 26,7% и альбумина на 78,6% от среднего. При этом происходит возрастание амплитуды колебаний альбумина на 14%, но снижение амплитуды колебаний общего белка на 0,4% (табл. 7). Это свидетельствует о низкой степени синхронизации клеток в тканях паховых лимфатических узлов молодых крыс, что обеспечивало бы их оптимальное функционирование при действии экзотоксиканта.

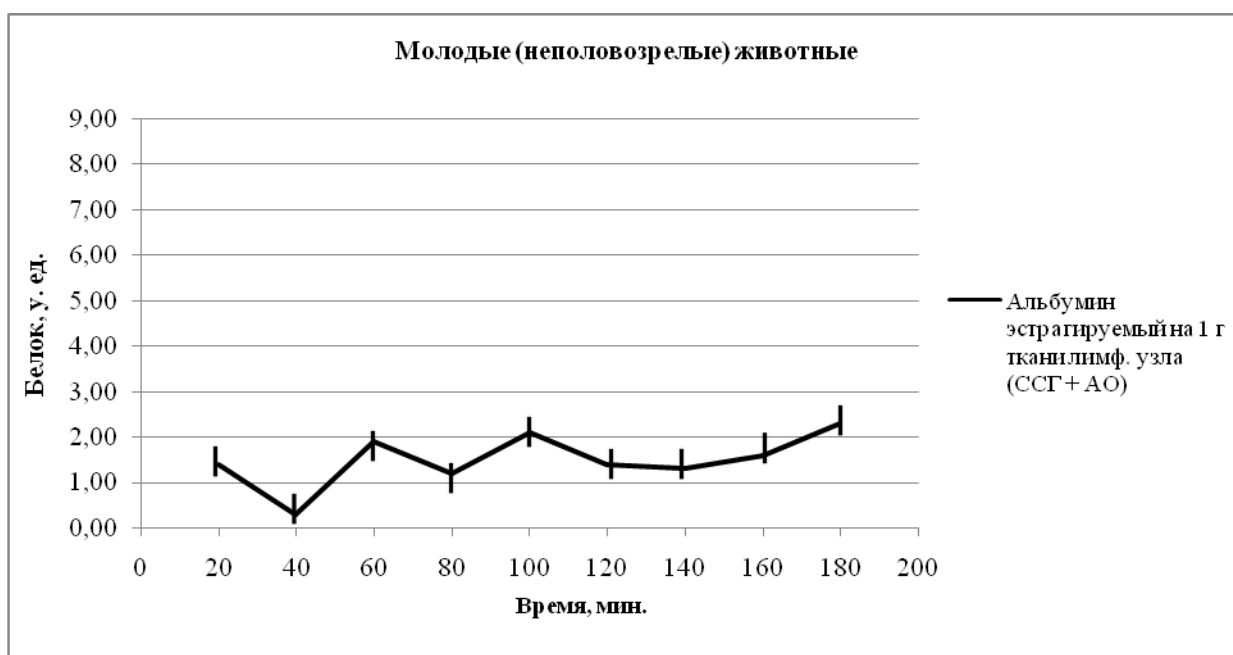


**Рис. 26 Ритмические колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся воздействию природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

Как показал анализ хронограммы (рис. 26) среднее содержание общего белка в тканях паховых лимфатических узлов крыс в условиях стресса на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата составляет 8,4

условных единиц. За время наблюдения отмечается четыре достоверных пика повышения его уровня: на 40-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах. Периоды колебаний составляют 20 и 40 минут с амплитудой около 54% от среднего, что на 2% ниже средней амплитуды содержания общего белка у интактных молодых животных.

На 40-й минуте уровень общего белка увеличивается до 12,6 условных единиц, через 20 минут показатель снижается до 4,7 сравнимых единиц. Затем содержание общего белка еще дважды увеличивается на 80-й и 120-й минутах наблюдения, достигая максимума – 12,9 условных единиц. Четвертый пик повышения уровня общего белка приходится на 160-ую минуту, когда показатель увеличивается до 10,1 сравнимых единиц.



**Рис. 27** Динамика содержания альбумина в тканях паховых лимфатических узлов молодых крыс, подвергшихся воздействию природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов

Анализ кинетической кривой (рис. 27) выявил четыре пика повышения содержания альбумина в тканях паховых лимфатических узлов. Так, на 20-й минуте показатель регистрируется на уровне 1,4 сравнимых единиц, к 60-й и 100-й минуте наблюдения уровень альбумина повторно возрастает до 1,9 и

2,1 условных единиц. Затем содержание изучаемого белка увеличивается на 160-й минуте до 1,6 условных единиц. Максимальное значение показателя регистрируется к 180-й минуте, увеличиваясь до 2,3 сравнимых единиц. Периоды колебаний уровня альбумина в тканях составляют в 40 и 60 минут, среднее содержание его соответствует 1,5 условных единиц, что на 7% выше контрольных значений (табл. 7). Амплитуда колебаний альбумина составила около 67% от среднего.

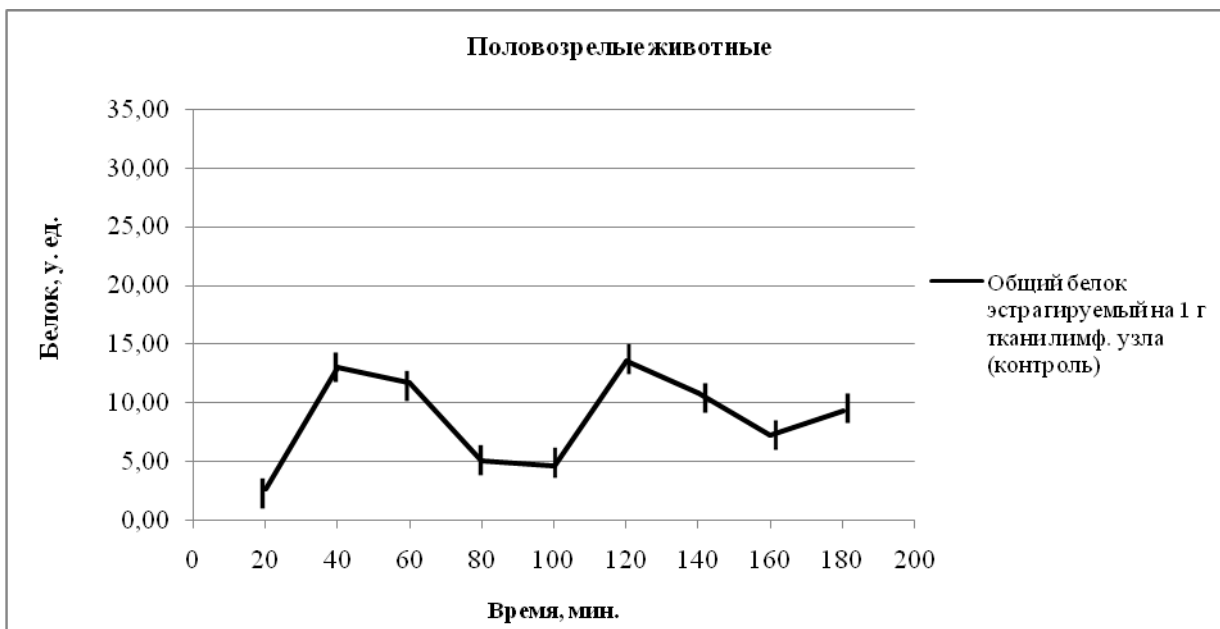
Таким образом, на фоне введения комплекса антиоксидантов (тималина и альфа-токоферола ацетата) при хронической ингаляции ССГ в тканях паховых лимфатических узлов молодых крыс происходит модификация окологасовых осцилляций. Введение комплекса антиоксидантов способствует увеличению содержания общего белка и альбумина на 33% и 80% соответственно, по сравнению с группой стрессированных животных этого же возраста, а так же приводит к восстановлению окологасового ритма альбумина. Полученные данные говорят о целесообразности введения антиоксидантов группе молодых животных на фоне хронического стресса для выведения экзогенных токсинов с помощью альбумина, как основного транспортного белка, так и для поддержания осмотических свойств в тканях лимфатических узлов.

#### **4.1.2. Половозрелые животные**

На кинетической кривой (рис. 28) зарегистрированы окологасовые колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых интактных крыс.

Как показал анализ хронограммы, среднее содержание общего белка составляет 8,7 условных единиц. За время наблюдения отмечается три достоверных пика повышения его уровня на 40-й, 120-й и 180-й минутах. К 40-й минуте наблюдения происходит увеличение содержания общего белка до 13,06 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 120-й минуте наблюдения, когда количество общего белка повышается до 13,56 сравнимых

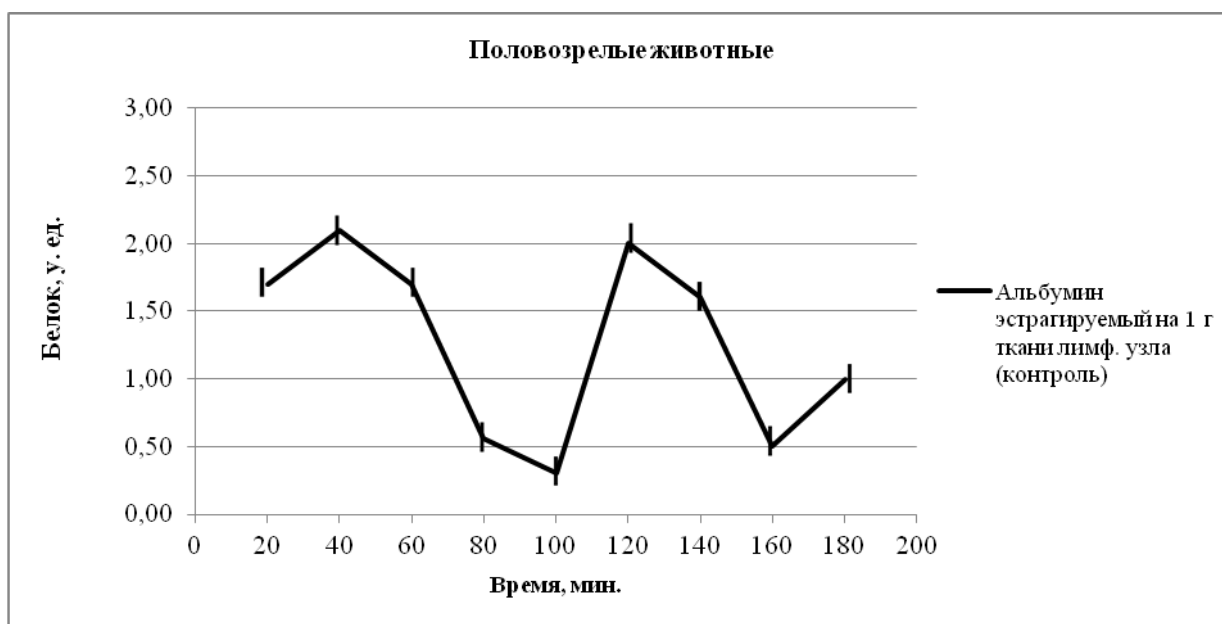
единиц, достигая максимума. Третий пик отмечен на 180-й минуте, когда показатель возрастает до 9,3 условных единиц. Амплитуда колебаний содержания общего белка в тканях лимфатических узлов половозрелых интактных животных составила 56% от среднего с периодами в 20 и 40 минут.



**Рис. 28 Ритмические колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых интактных крыс**

На хронограмме (рис. 29) выявлен окологосовой ритм содержания альбумина в тканях паховых лимфатических узлов интактных животных с амплитудой 65% от среднего. Зарегистрировано 3 достоверных подъема его уровня на 40-й, 120-й и 180-й минуте наблюдения. К 40-й минуте происходит увеличение содержания альбумина до 2,1 условных единиц, достигая максимума на кинетической кривой. Затем на протяжении 60 минут отмечается снижение показателя до 0,3 условных единиц. На 120-й минуте наблюдения регистрируется вновь повышение уровня альбумина до 2,0 условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения содержание альбумина в ткани снижается до 0,5 сравнимых единиц и к 180-ой минуте показатель его уровня возрастает до 1,0 условных единиц. Среднее

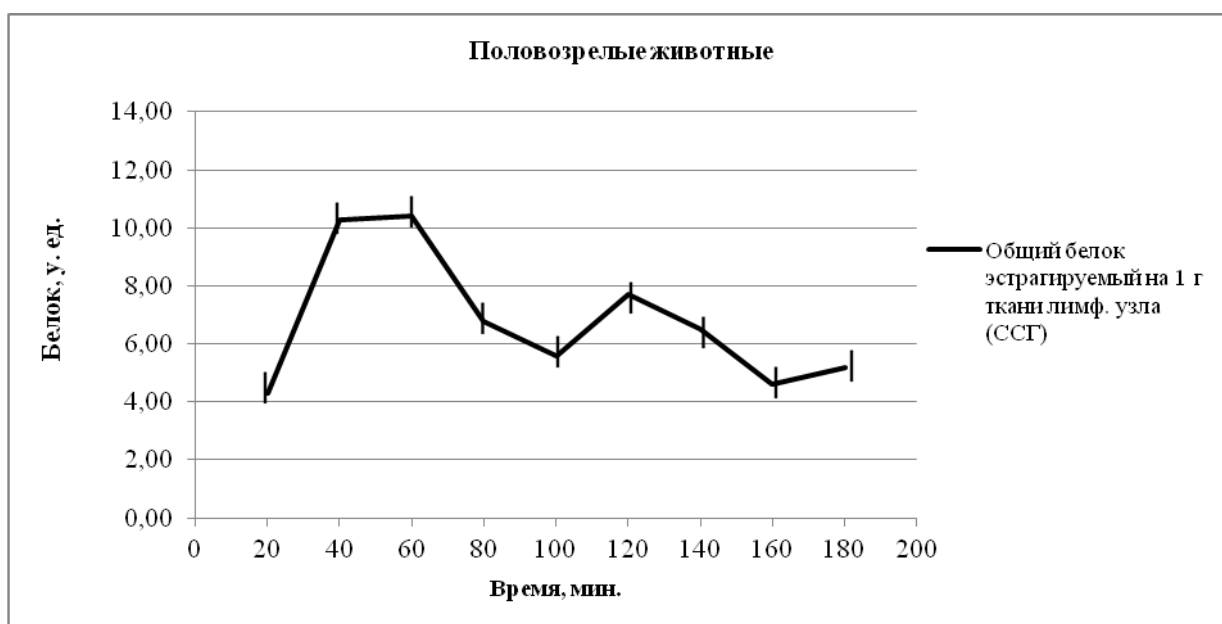
содержание альбумина в тканях лимфатических узлов составило 1,27 условных единиц. Периоды его колебаний - 20 и 40 минут.



**Рис. 29** Динамика содержания альбумина в тканях лимфатических узлов половозрелых интактных крыс

В условиях хронического стресса среднее количество общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых крыс соответствует 6,9 условных единиц. В течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка на 40-й, 120-й и 180-й минутах (рис. 30). На 40-й минуте показатель увеличивается до 10,3 сравнимых единиц. Через 20 минут наблюдения уровень общего белка в ткани достигает 10,4 сравнимых единиц. Затем его количество снижается до 6,8 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 120-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 7,7 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения показатель снижается, достигая 4,6 условных единиц. К 180-ой минуте уровень общего белка вновь возрастает до 5,2 условных единиц. Амплитуда колебаний содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых животных, подвергшихся хронической ингаляции природным газом, составила около 53% от среднего с периодами в 40 и 60 минут.

На хронограмме (рис. 31) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых крыс, подвергшихся воздействию экзотоксикантом.



**Рис. 30 Ритмические колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

Среднее содержание альбумина снижается по сравнению с контролем на 53% и составило 0,6 условных единиц.

Зарегистрировано 3 достоверных пика повышения его уровня на 60-й, 120-й и 180-й минуте наблюдения. На протяжении 40 минут наблюдения происходит увеличение содержания альбумина до 0,9 условных единиц, достигая максимума на кинетической кривой к 60-й минуте. Затем на протяжении 40 минут отмечается снижение показателя до 0,4 условных единиц. На 120-й минуте наблюдения регистрируется второй пик повышения содержания альбумина, когда количество белка возрастает до 0,7 условных единиц. К 140-й минуте уровень альбумина в ткани снижается до 0,6 сравнимых единиц. На 180-й минуте происходит третий подъем его уровня до 0,4 условных единиц. Амплитуда колебаний содержания альбумина в тканях лимфатических узлов составила 50% от среднего, что на 15% ниже контроля (табл. 8). Периоды его колебаний 40 и 60 минут.

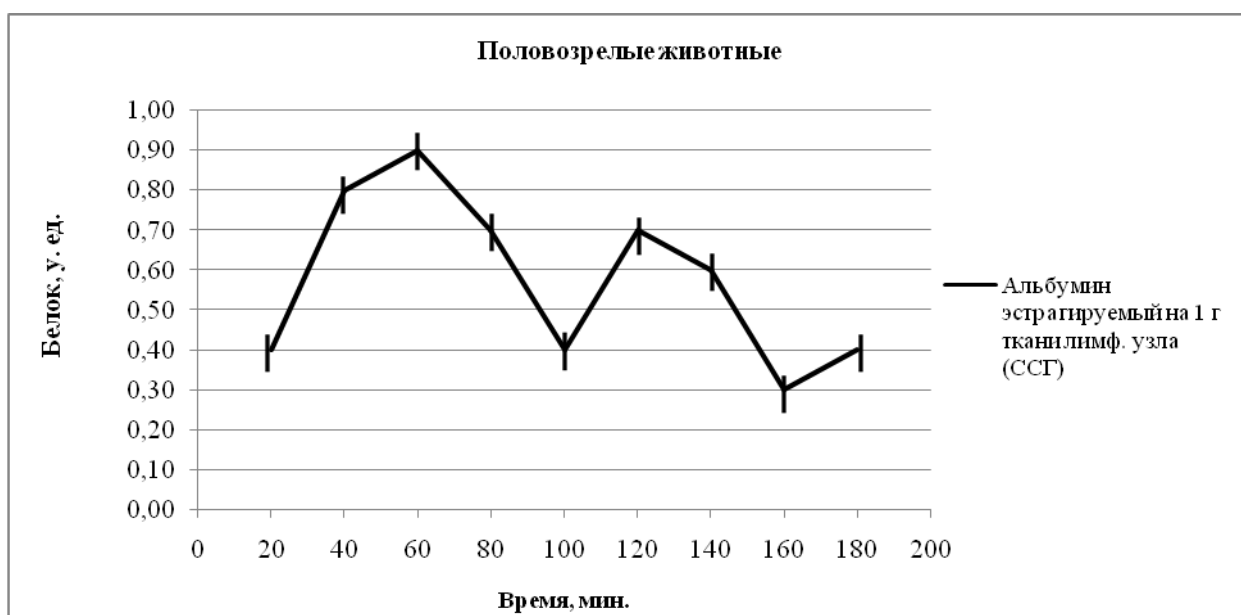
Таким образом, в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых животных в условиях стресса динамика содержания общего белка и альбумина сохраняет окологасовую периодичность. Тем не менее, токсическое воздействие приводит к снижению амплитуды колебаний, как общего белка, так и альбумина на 3% и 15% соответственно, что тем самым модифицирует ритмическую кривую (табл. 8).

**Таблица 8**

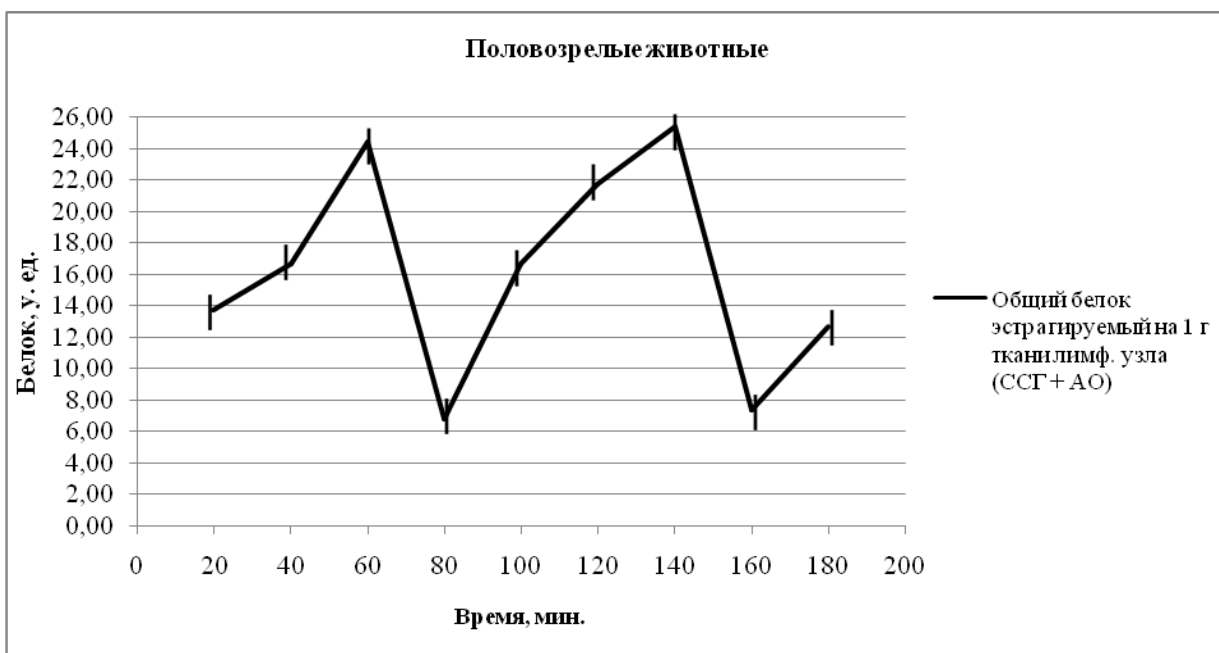
Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани паховых лимфатических узлов половозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Лимфатические узлы	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	8,7±1,8	56%	20-40 мин
	ССГ	6,9±1,2*	53%	40-60 мин
	ССГ+АО	16,0±4,4 <sup>♠</sup>	59%	20 мин
Альбумин	К	1,27±0,4	65%	20-40 мин
	ССГ	0,6±0,1*	50%	40-60 мин
	ССГ+АО	5,0±2,2 <sup>♠</sup>	78%	20-40 мин

*Примечание:* \* $p < 0,05$  в сравнении с контролем; <sup>♠</sup> $p < 0,05$  в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; <sup>♠</sup> $p < 0,05$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



**Рис. 31** Динамика содержания альбумина в паховых лимфатических узлах половозрелых крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ



**Рис. 32 Ритмические колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

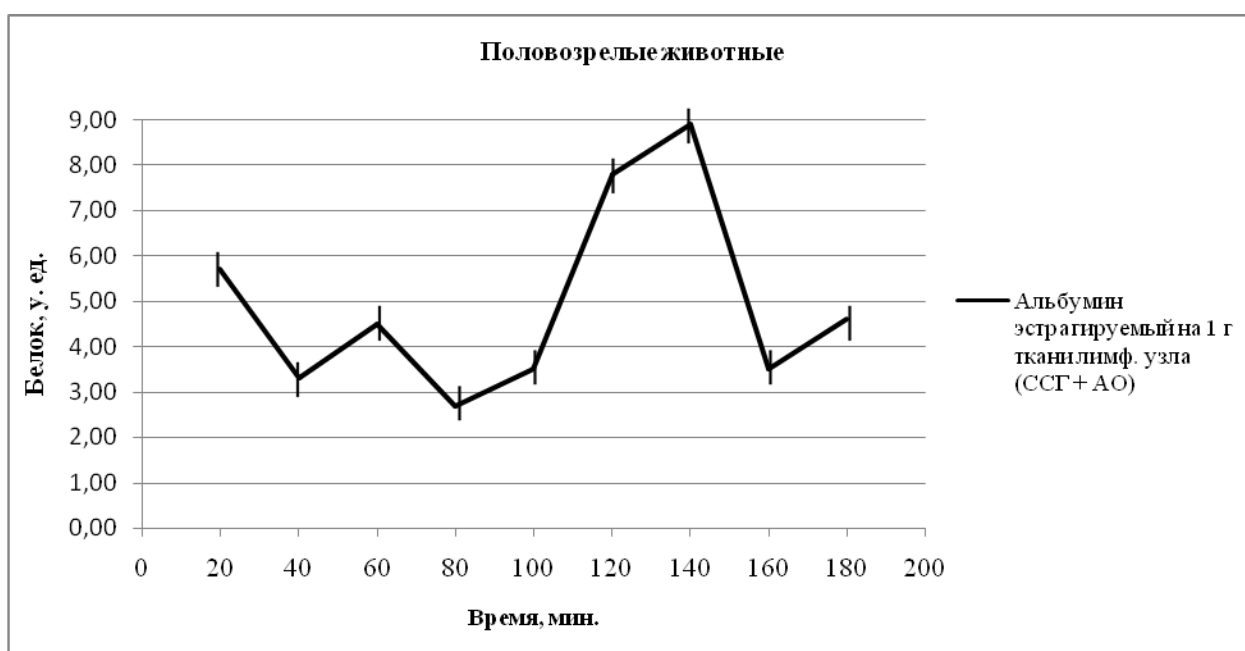
На фоне хронического стресса наблюдается выраженное снижение уровня содержания общего белка в тканях лимфатических узлов на 21% и альбумина на 53% от среднего.

На кинетической кривой (рис. 32) зарегистрированы околочные колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов половозрелых животных подгруппы ССГ+АО. Как показал анализ ритмической кривой, среднее содержание общего белка составляет 16,0 условных единиц. За время наблюдения отмечается четыре достоверных пика повышения уровня этого белка на 60-й, 120-й, 140-й и 180-й минутах. На протяжении первых 60-и минут наблюдения происходит увеличение количества общего белка до 24,4 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 100-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 16,7 сравнимых единиц, затем к 120-й минуте показатель вновь увеличивается до 21,7 условных единиц. На 140-й минуте третий подъем показателя изучаемого белка достигает максимума: 25,4 условных



единиц. Четвертый подъем содержания общего белка до 12,7 условных единиц регистрируется к 180-й минуте наблюдения. Амплитуда колебаний при этом составила 59% от среднего с периодичностью в 20 минут.

На хронограмме (рис. 33) выявлен окологоразовый ритм содержания альбумина в тканях паховых лимфатических узлов крыс с амплитудой 78% от среднего и зарегистрировано пять достоверных пиков повышения его уровня на 20-й, 60-й, 120-й, 140-й и 180-й минуте наблюдения. К 20-й минуте происходит увеличение содержания альбумина до 5,7 условных единиц, затем регистрируется его снижение до 3,3 сравнимых единиц.



**Рис. 33 Динамика содержания альбумина в паховых лимфатических узлах половозрелых крыс при воздействии сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

Второй подъем изучаемого показателя происходит к 60-й минуте до 4,5 условных единиц, затем вновь уровень альбумина увеличивается, достигая максимума на кинетической кривой к 140-й минуте: 8,9 условных единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения содержание альбумина в ткани снижается до 3,5 сравнимых единиц. К 180-й минуте регистрируется пятый подъем изучаемого показателя до 4,6 условных единиц. Среднее

содержание альбумина в ткани составило 5,0 условных единиц с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

Таким образом, при хронической ингаляции природного газа АГКМ на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата у половозрелых крыс отмечается повышение активности процессов обмена белков в тканях лимфатических узлов. За 180 минут наблюдения нами зарегистрировано достоверное увеличение содержания общего белка и альбумина в сравнении, как с контрольными значениями, так и с показателями половозрелых животных подгруппы ССГ (табл. 8). Периодичность колебаний сохраняется. Модификация околочасовых ритмических процессов на фоне введения антиоксидантов затрагивает изменение амплитуды колебаний, как общего белка, так и альбумина. Отмечается увеличение амплитуды околочасового ритма общего белка на 6% и альбумина на 28% от среднего, в сравнении с показателями половозрелых животных подгруппы ССГ (табл. 8).

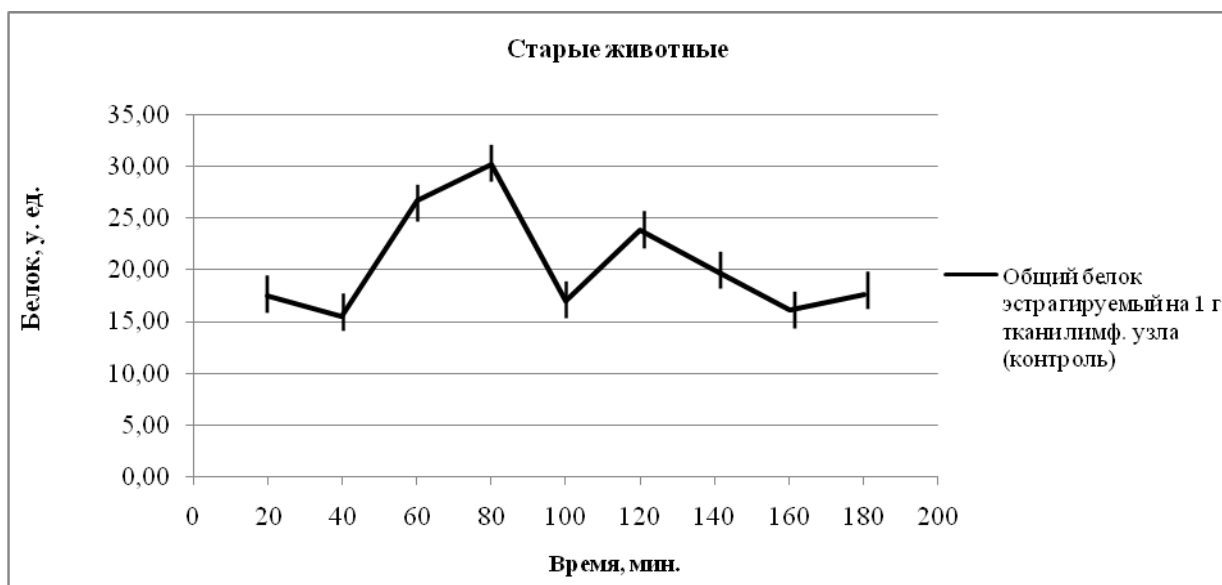
#### **4.1.3 Старые животные**

На кинетической кривой (рис. 34) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в паховых лимфатических узлах старых интактных крыс. Как показал анализ хронограммы, среднее содержание белка составляет 20,5 условных единиц. К 60-й минуте наблюдения происходит повышение уровня общего белка до 26,7 условных единиц, увеличение показателя регистрируется так же на протяжении последующих 20 минут наблюдения до 30,2 сравнимых единиц, достигая максимального значения. Затем на 100-й минуте происходит снижение содержания общего белка до 17,0 условных единиц. На 120-й и к 180-й минуте наблюдения показатель повышается еще дважды - до 23,9 и 17,6 условных единиц соответственно. Таким образом, у старых интактных животных зарегистрировано четыре достоверных пика увеличения количества общего белка в лимфатических узлах на 60-й, 80-й, 120-й и 180-й минуте наблюдения.

Амплитуда колебаний общего белка составила около 48% от среднего с периодичностью в 20 и 40 минут.

На хронограмме (рис. 35) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в паховых лимфоузлах старых интактных крыс с амплитудой около 77% от среднего с периодами колебаний в 40 и 60 минут.

Нами зарегистрировано пять достоверно высоких пика содержания альбумина. На 20-й минуте наблюдения происходит увеличение уровня альбумина до 1,5 условной единицы.



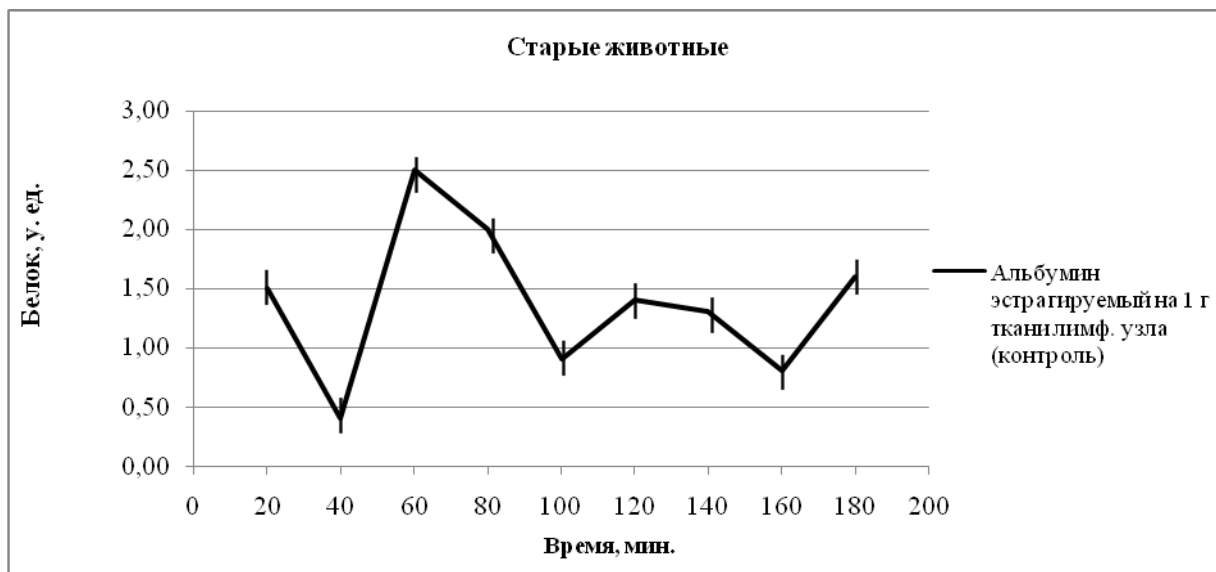
**Рис. 34** Динамика содержания общего белка в паховых лимфатических узлах старых интактных крыс

Затем на 40-й минуте регистрируется снижение количества белка до 0,4 условных единиц и к 60-й минуте вновь отмечается повышение этого показателя до 2,5 условных единиц, достигая максимума. Затем содержание альбумина увеличивается еще дважды – на 120-й и 180-й минутах до 1,4 и 1,6 соответственно сравнимых единиц.

Среднее содержание альбумина в паховых лимфоузлах старых интактных животных составляет 1,4 условных единиц.

В условиях стресса среднее содержание общего белка в тканях паховых лимфатических узлов старых крыс соответствует 9,2 условных единиц. На протяжении 60 минут наблюдения регистрируется увеличение содержания

общего белка и достигает максимального значения - до 13,1 сравнимых единиц. Затем его количество снижается до 7,5 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 100-й минуте наблюдения, когда уровень общего белка повышается до 8,8 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения показатель снижается, достигая минимума - 6,5 условных единиц. Третий пик повышения содержания общего белка происходит на 180-ой минуте, когда показатель возрастает до 8,1 условных единиц.

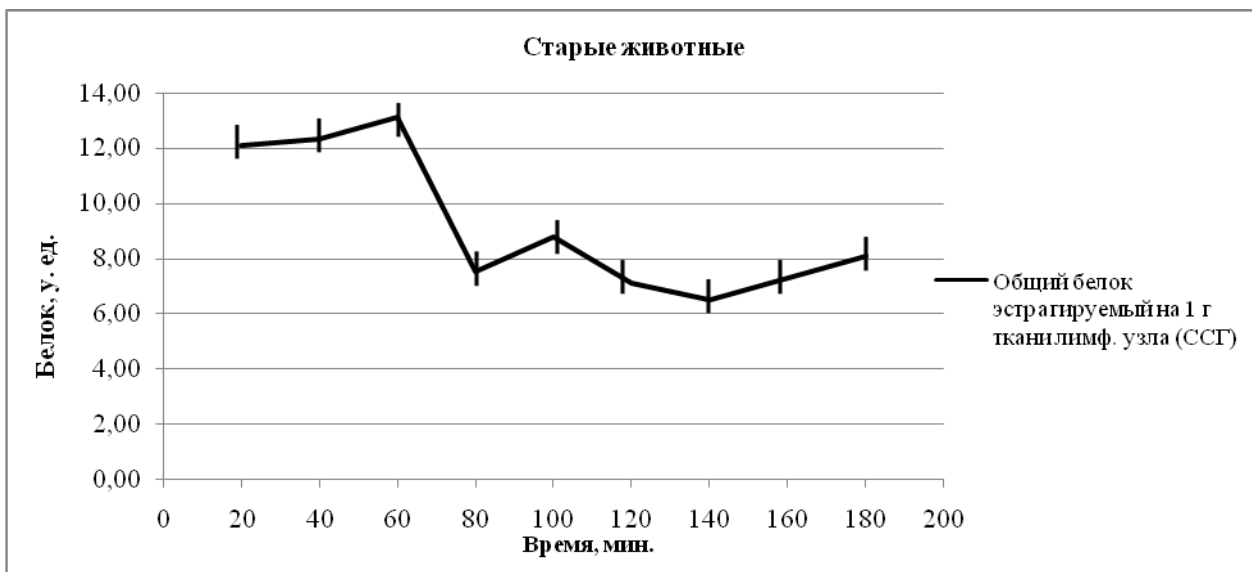


**Рис. 35** Динамика содержания альбумина в тканях паховых лимфатических узлов старых интактных крыс

Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрированы три достоверных максимума содержания общего белка на 60-й, 100-й и 180-й минутах (рис. 36). Амплитуда колебаний содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов старых животных, подвергшихся хроническому стрессу, составила около 42% от среднего с периодами в 40 и 60 минут.

На кинетической кривой (рис. 37) выявлен околочасовой ритм содержания альбумина в тканях паховых лимфоузлов старых животных подгруппы ССГ. Среднее содержание альбумина снижается по сравнению с контролем на 76,5% и составило 0,4 условных единиц.

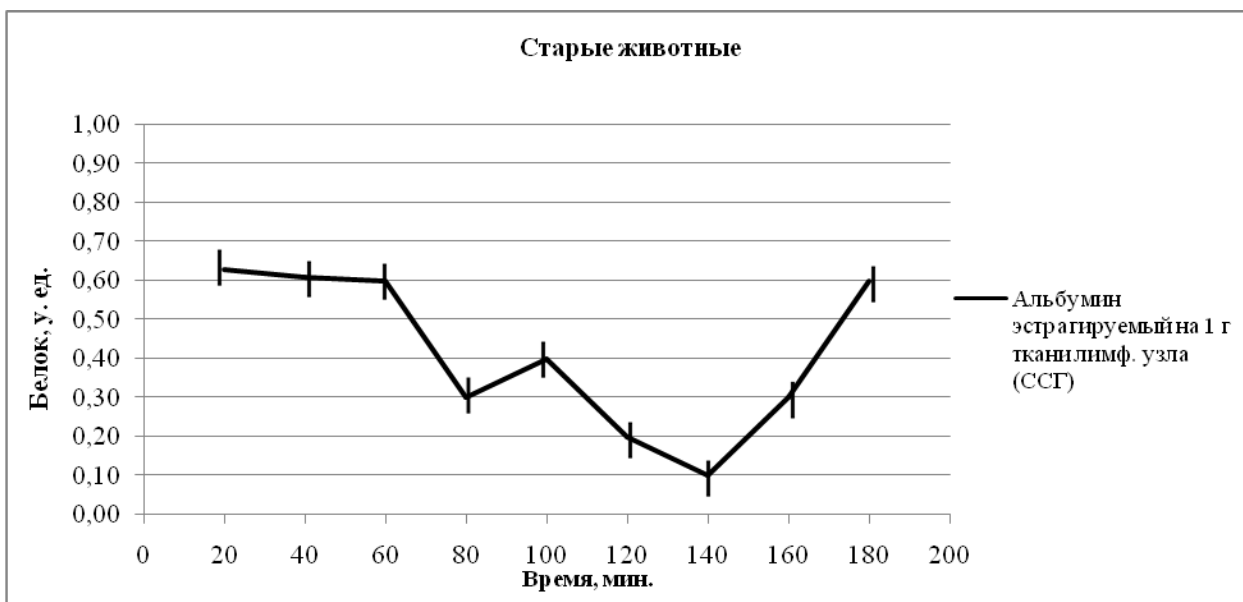
Через 20 минут наблюдения этот показатель возрастает до 0,63 условных единиц. Затем на протяжении 40 минут количество этого белка достоверно не изменяется, а на 80-й минуте показатель снижается до 0,3 условных единиц. На 100-й минуте регистрируется второй подъем содержание альбумина до 0,4 условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут регистрируется снижение изучаемого показателя, достигая своего минимума к 140-й минуте, и составило 0,1 условных единиц.



**Рис. 36 Ритмические колебания содержания общего белка в тканях паховых лимфатических узлов старых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащего природного газа АГКМ**

В дальнейшем происходит повышение уровня альбумина еще дважды на 160-й и к 180-ой минутам наблюдения, когда его содержание в тканях лимфатических узлов возрастает до 5,1 и до 7,2 условных единиц соответственно.

Амплитуда колебаний содержания альбумина в тканях лимфоузлов старых животных, подгруппы ССГ, составила около 57,5% от среднего с периодами в 20 и 40 минут.



**Рис. 37** Динамика содержания альбумина в паховых лимфоузлах старых крыс при воздействии сероводородсодержащего природного газа АГКМ

Таким образом, в тканях паховых лимфоузлов старых крыс в условиях стресса динамика содержания общего белка и альбумина сохраняет окологосударственную периодичность.

**Таблица 9**

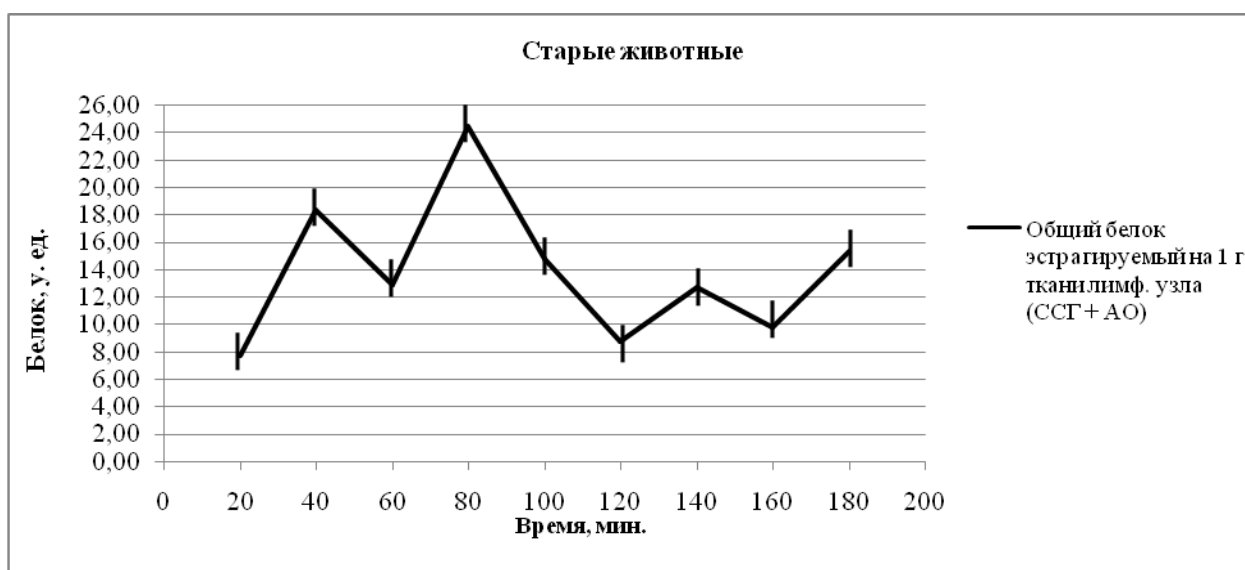
Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани паховых лимфатических узлов старых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Лимфатические узлы	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	20,5±5,4	48%	20-40 мин
	ССГ	9,2±1,8*	42%	40-60 мин
	ССГ+АО	13,9±1,6 <sup>0#</sup>	76%	40 мин
Альбумин	К	1,4±0,5	77%	40-60 мин
	ССГ	0,4±0,1*	57,5%	20-40 мин
	ССГ+АО	6,0±2,8 <sup>0#</sup>	22%	40-60 мин

*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Тем не менее, токсическое воздействие приводит к снижению амплитуды колебаний, как общего белка, так и альбумина на 5,5% и 19,5% соответственно, что тем самым модифицирует ритмическую кривую. На

фоне хронической интоксикации наблюдается подавление ферментных систем, транспорта клеточных белков, что сопровождается угнетением и функциональной активности, как на клеточном, так и тканевом уровнях. В результате, зарегистрировано снижение содержания общего белка на 55% и альбумина на 76,5% от среднего в сравнении с контрольными значениями (табл. 9).



**Рис. 38 Ритмические колебания содержания общего белка в тканях лимфатических узлов старых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащего природного газа АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

Как показал анализ ритмической кривой (рис. 38) в условиях хронической ингаляции природного газа на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата среднее содержание общего белка составило 13,9 условных единиц. В течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка на 40-й, 80-й, 140-й и 180-й минутах. На 40-й минуте наблюдения происходит увеличение уровня общего белка до 18,4 условных единиц. Второй подъем достигает максимума к 80-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 24,5 сравнимых единиц. Затем происходит снижение показателя до 120-й минуты наблюдения до 8,8 условных единиц. Третий высокий пик изучаемого

показателя регистрируется на 140-й минуте, когда количество белка возрастает до 12,7 условных единиц. Четвертый подъем уровня общего белка до 15,3 условных единиц регистрируется на 180-й минуте наблюдения. Амплитуда колебаний общего белка при этом составила 76% от среднего с периодичностью в 40 минут.



**Рис. 39** Динамика содержания альбумина в паховых лимфоузлах старых крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащего природного газа АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов

На хронограмме (рис. 39) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в тканях паховых лимфоузлов старых животных с амплитудой 22% от среднего с периодами колебаний в 40 и 60 минут. На протяжении 60 минут наблюдения регистрируется увеличение его уровня, в результате чего показатель возрастает до 7,3 сравнимых единиц, достигая максимального значения. Затем количество альбумина постепенно снижается и к 120-й минуте составляет 3,0 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 140-й минуте наблюдения, когда показатель повышается до 6,0 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения показатель снижается, достигая минимума - 5,1 условных единиц. Третий пик повышения содержания альбумина в тканях регистрируется на 180-ой



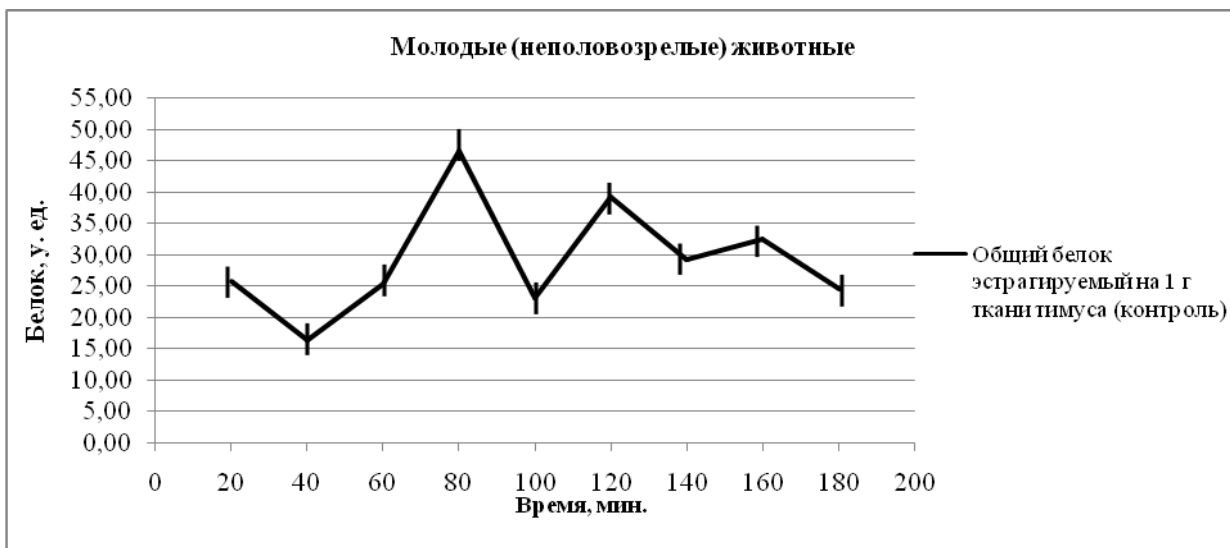
минуте, когда его уровень возрастает до 7,2 условных единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрированы три достоверных максимума содержания этого белка на 60-й, 140-й и 180-й минутах (рис. 39). Среднее содержание альбумина в тканях паховых лимфатических узлов старых крыс, подвергшихся стрессу на фоне комплексного введения антиоксидантов, составило 6,0 условных единиц.

Таким образом, у старых животных по мере становления адаптационных механизмов к экзогенному токсическому воздействию на фоне введения антиоксидантов ответная реакция проявляется в сглаживании кинетической кривой содержания альбумина. При этом амплитуда колебаний снижается на 35,5% (табл. 9), в то время как среднее содержание этого белка увеличивается, в сравнении с подгруппой животных ССГ. Возможно, это связано с истощением компенсаторных возможностей тканей паховых лимфатических узлов этой возрастной группы животных.

## 4.2. Онтогенетические аспекты околочасовых клеточных ритмов изучаемых белков в ткани тимуса

### 4.2.1 Молодые (неполовозрелые) животные

На кинетической кривой (рис. 40) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в ткани тимуса молодых интактных крыс. Как показал анализ хронограммы, среднее содержание белка составляет 29,0 условных единиц. Через 20 минут наблюдения показатель возрастает до 25,8 условных единиц. К 40-й минуте происходит снижение уровня общего белка до 16,5 условных единиц. Затем на протяжении 60 минут наблюдения регистрируется увеличение синтетической активности, в результате чего показатель возрастает до 46,7 сравнимых единиц, достигая максимального значения. Затем содержание общего белка повышается еще дважды – до 39,3 условных единиц к 120-й минуте и к 160-й минуте наблюдения до 32,5 сравнимых единиц. Таким образом, у молодых интактных животных зарегистрировано четыре достоверно высоких пика общего белка в тимусе на 20-й, 100-й, 120-й и 160-й минуте наблюдения.



**Рис. 40** Динамика содержания общего белка в ткани тимуса молодых (неполовозрелых) интактных крыс

Периоды колебаний содержания общего белка составили в 20 и 40 минут с амплитудой около 47% от среднего.

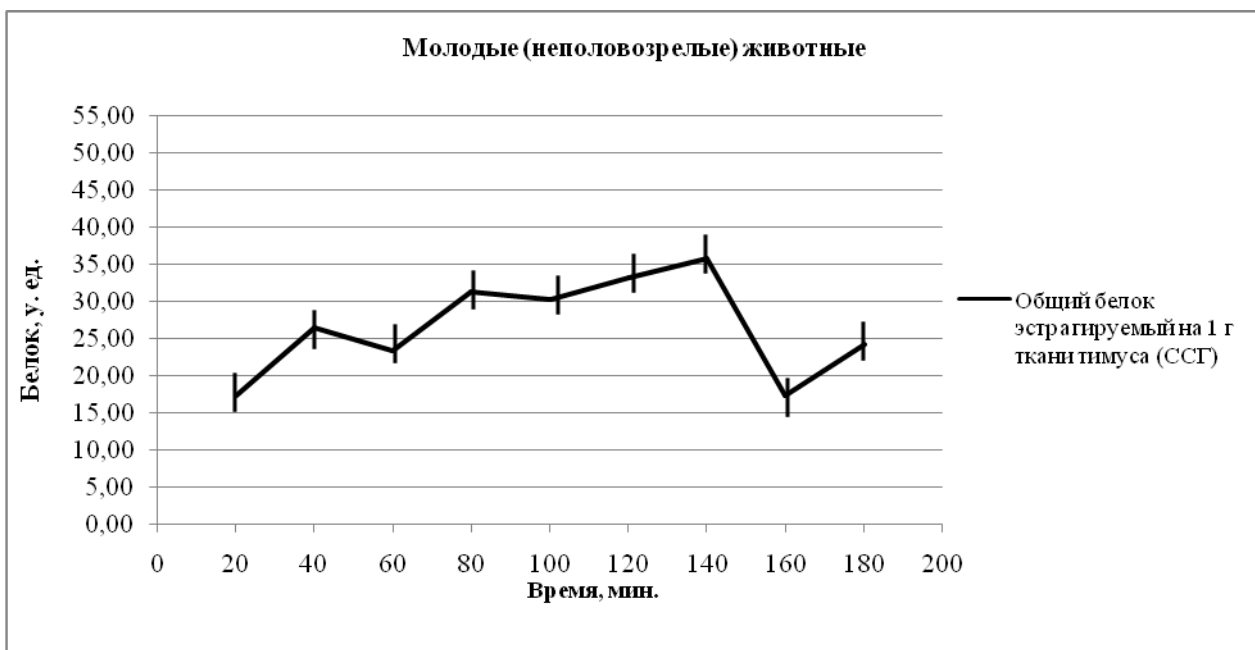


**Рис. 41** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса молодых (неполовозрелых) интактных крыс

На хронограмме (рис. 41) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в тимусе молодых интактных животных с амплитудой около 53% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

Нами зарегистрировано увеличение уровня альбумина на 20-й минуте наблюдения до 9,98 условных единиц. К 40-й минуте происходит снижение количества этого белка в ткани тимуса до 5,3 условных единиц. Затем на протяжении 40 минут наблюдения происходит увеличение показателя до 7,6 сравнимых единиц. Третий подъем содержания альбумина до 7,9 условных единиц происходит к 120-й минуте наблюдения. Четвертый пик повышения этого белка регистрируется к 180-й минуте, достигая максимума, когда показатель увеличивается до 11,9 сравнимых единиц. Среднее содержание альбумина в тимусе молодых интактных крыс составляет 7,8 условных единиц.

В условиях стресса среднее содержание общего белка в тимусе молодых крыс составляет 27,0 условных единиц. В течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка на 40-й, 80-й, 140-й и 180-й минутах (рис. 42).

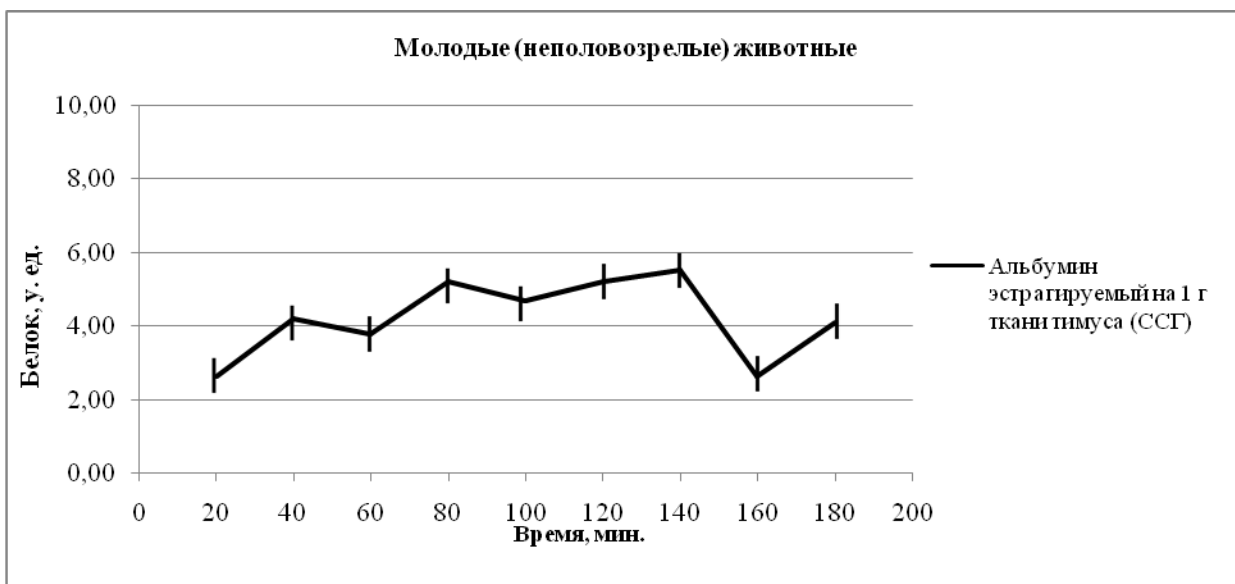


**Рис. 42 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани тимуса молодых (неполовозрелых) крыс при воздействии сероводородсодержащего природного газа АГКМ**

На 40-й минуте показатель увеличивается до 26,4 сравнимых единиц, затем количество общего белка снижается до 23,3 условных единиц. На 80-й и 140-й минуте наблюдения вновь регистрируется подъем уровня содержания общего белка до 31,35 и 35,75 соответственно условных единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения показатель вновь снижается, достигая минимума 17,3 условных единиц. Четвертый пик повышения количество общего белка до 24,3 условных единиц зарегистрирован на 180-й минуте. Периоды колебаний его составляют 20 и 40 минут с амплитудой около 32% от среднего.

При анализе хронограммы (рис. 43) зарегистрировано четыре достоверных пика повышения уровня содержания альбумина на 40-й, 80-й, 140-й и 180-й минуте наблюдения.

К 40-й минуте происходит увеличение количества альбумина в ткани до 4,2 условных единиц, к 60-й минуте показатель снижается до 3,8 сравнимых единиц. Затем содержание альбумина повышается еще дважды на 80-й и 120-й минутах наблюдения до 5,2 условных единиц.



**Рис. 43** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса молодых (неполовозрелых) крыс при хроническом воздействии сероводородсодержащего природного газа АГКМ,

Максимум уровня содержания этого белка регистрируется на 140-й минуте, когда показатель повышается до 5,5 условных единиц. К 160-й минуте регистрируется резкое снижение показателя до 2,6 условных единиц, достигая минимума. На 180-й минуте эксперимента вновь регистрируется увеличение количества альбумина до 4,1 условной единицы. Среднее содержание альбумина в вилочковой железе составило 4,2 условных единиц, с периодами колебаний в 20 и 40 минут. Амплитуда колебаний соответствует 31% от среднего.

Таким образом, на представленных хронограммах нами зарегистрировано сохранение околичасовой периодичности содержания общего белка и альбумина в тимусе молодых животных в условиях стресса. Наблюдается при этом выраженное угнетение белкового обмена. В сравнении с контролем при токсическом воздействии происходит снижение содержания общего белка на 7% и альбумина на 46% от среднего. Так же при этом происходит снижение амплитуды колебаний - общего белка на 28% и альбумина на 22% (табл. 10). Это свидетельствует о низкой степени

синхронизации иммунокомпетентных клеток в ткани тимуса молодых крыс, что обеспечивало бы их оптимальное функционирование в условиях стресса.

**Таблица 10**

Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани тимуса неполовозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

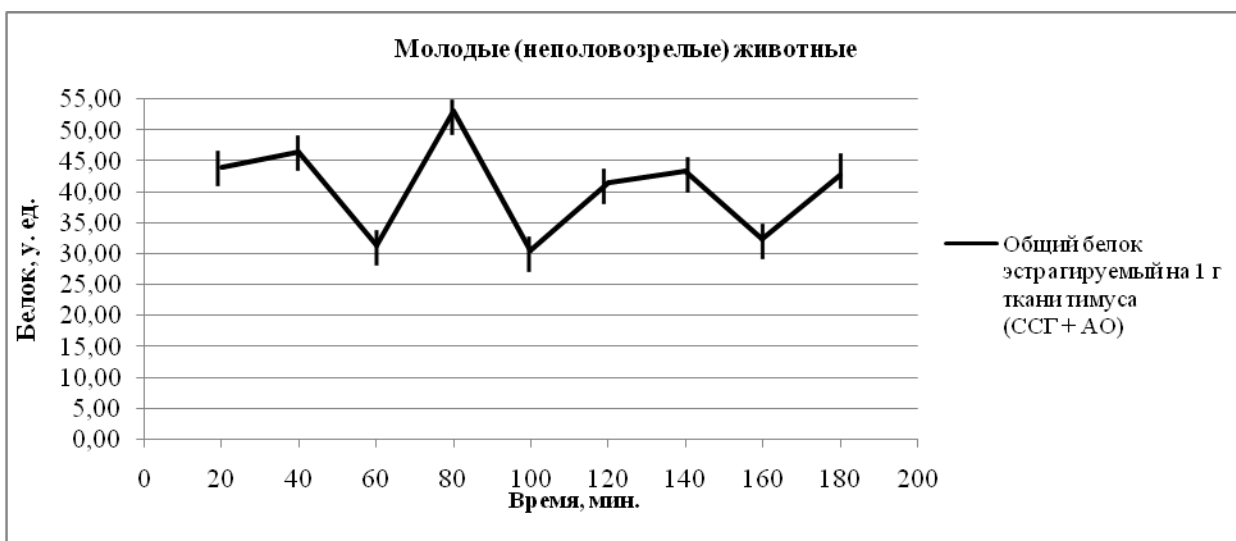
Тимус	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	29,0±4,7	47%	20-40 мин
	ССГ	27,0±4,1*	32%	20-40 мин
	ССГ+АО	41,0±5,7 <sup>◇#</sup>	32%	20-40 мин
Альбумин	К	7,8±1,8	53%	20-40 мин
	ССГ	4,2±1,6*	31%	20-40 мин
	ССГ+АО	17,0±6,2 <sup>◇#</sup>	38%	20-40 мин

*Примечание:* \*p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>◇</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; <sup>#</sup>p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Как показал анализ ритмической кривой (рис. 44) в условиях хронической ингаляции природного газа на фоне комплексного ведения тималина и альфа-токоферола ацетата среднее содержание общего белка в тимусе составило 41,0 условных единиц.

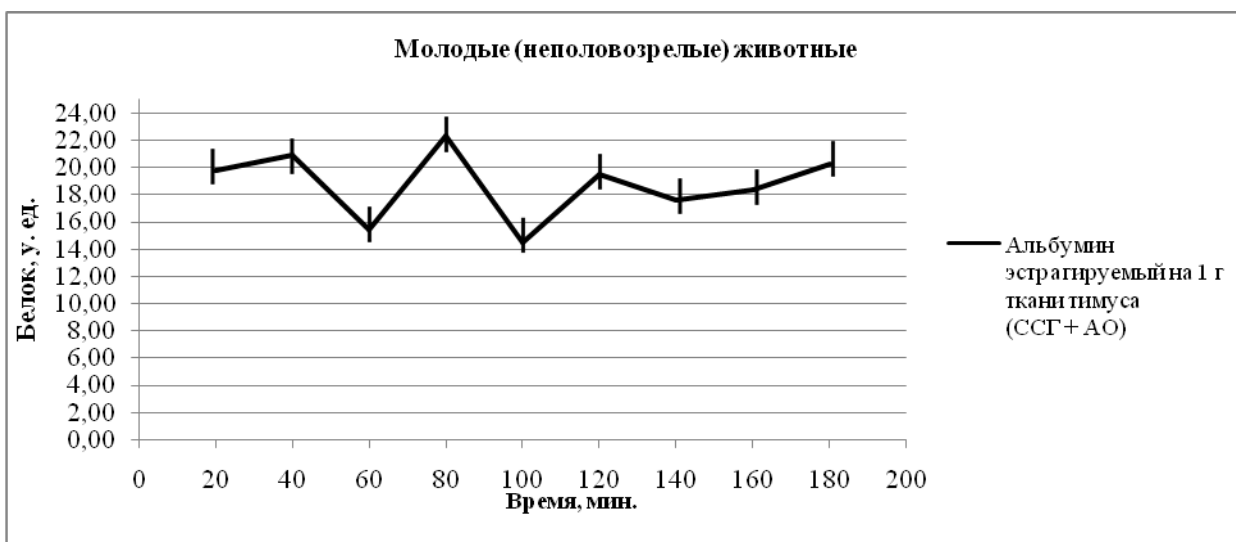
В течение 180 минут наблюдения зарегистрированы пять достоверных максимума содержания этого белка на 40-й, 80-й, 120-й, 140-й и 180-й минутах. На 40-й минуте наблюдения происходит увеличение уровня общего белка до 46,5 условных единиц. Второй подъем достигает максимума к 80-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 54,1 сравнимых единиц. Затем происходит снижение показателя к 100-й минуте наблюдения до 30,46 условных единиц. Третий пик активности регистрируется на 120-й минуте, когда количество белка возрастает до 41,5 условных единиц. Четвертый подъем уровня общего белка до 43,4 условных единиц регистрируется на 140-й минуте, после чего к 180-й минуте

наблюдения вновь происходит увеличение показателя до 42,7 сравнимых единиц.



**Рис. 44** Ритмические колебания содержания общего белка в ткани тимуса молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов

Амплитуда колебаний общего белка в ткани тимуса составила 32% от среднего с периодичностью в 20 и 40 минут.



**Рис. 45** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов

На хронограмме (рис. 45) выявлен околочасовой ритм содержания альбумина в тимусе молодых животных подгруппы ССГ+АО с амплитудой около 38% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

На протяжении 40 минут наблюдения регистрируется увеличение уровня альбумина в ткани, в результате чего показатель возрастает до 20,9 сравнимых единиц. Затем количество этого белка постепенно снижается и к 60-й минуте составляет 15,4 условных единиц. Максимальный подъем его содержания в ткани регистрируется к 140-й минуте наблюдения, когда показатель повышается до 23,4 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения уровень снижается, достигая минимума - 14,5 условных единиц. Третий пик увеличения содержания альбумина регистрируется к 120-й минуте, когда количество белка возрастает до 19,5 условных единиц. Затем показатель повышается еще дважды на 160-й и 180-й минутах наблюдения до 18,3 и 19,8 условных единиц соответственно. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума содержания этого белка в ткани на 40-й, 80-й, 120-й, 160-й и 180-й минутах (рис. 45).

Среднее содержание альбумина в тимусе молодых животных, подвергшихся хронической ингаляции ССГ на фоне комплексного введения антиоксидантов, составило 17,0 условных единиц.

Таким образом, у молодых крыс в условиях стресса на фоне введения альфа-токоферола и тималина происходит модификация околочасовых осцилляций в тимусе. Формирующаяся ответная реакция характеризуется увеличением среднего содержания, как общего белка, так и альбумина (табл. 10). Применяемый в эксперименте комплекс антиоксидантов способствовал увеличению амплитуды колебаний, появлению пяти достоверно высоких пиков рассматриваемых биохимических показателей.

Полученные данные свидетельствуют о целесообразности введения тималина и альфа-токоферола ацетата группе молодых животных на фоне

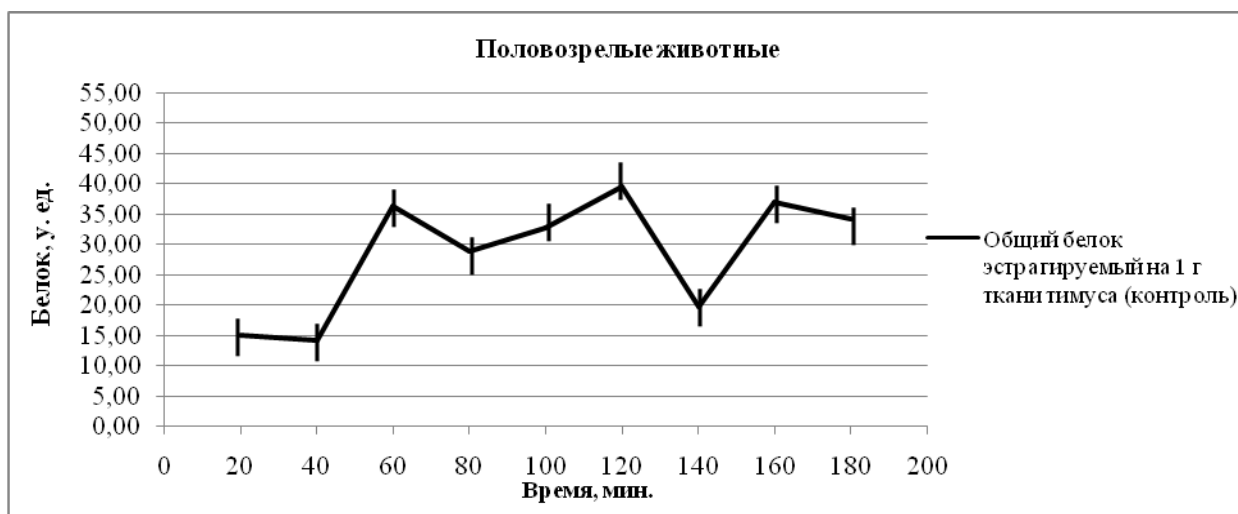


хронического стресса для оптимального функционирования клеток тимуса и синхронизации их деятельности.

#### 4.2.2 Половозрелые животные

На кинетической кривой (рис. 46) зарегистрированы околочные колебания уровня содержания общего белка в тимусе половозрелых интактных крыс.

Как показал анализ хронограммы, среднее количество общего белка составляет 29,0 условных единиц. За время наблюдения отмечается четыре достоверных пика повышения его содержания в ткани на 60-й, 100-й, 120-й и 160-й минутах. К 60-й минуте наблюдения происходит увеличение уровня общего белка до 36,3 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 100-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 32,7 сравнимых единиц.



**Рис. 46** Динамика содержания общего белка в ткани тимуса половозрелых интактных крыс

Третий пик активности отмечен на 120-й минуте, когда показатель возрастает до 39,6 условных единиц, достигая максимума. Четвертый подъем уровня общего белка до 36,9 условных единиц регистрируется на 160-й минуте. Амплитуда колебаний содержания общего белка в тимусе половозрелых интактных животных составила 36,5% от среднего с периодами в 20 и 40 минут.

На хронограмме (рис. 47) выявлен окологасовой ритм уровня альбумина в ткани вилочковой железы половозрелых интактных крыс с амплитудой около 37% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут. Первый пик подъема его количества зарегистрирован на 60-й минуте наблюдения, когда показатель увеличивается до 14,3 условных единиц. Затем уровень альбумина постепенно снижается и к 60-й минуте составляет 9,9 условных единиц. На протяжении 40 минут наблюдения показатель повышается еще дважды на 100-й и 120-й минутах до 13,1 и 16,6 условных единиц соответственно. Следующий подъем содержания этого белка происходит к 160-й минуте, достигая 12,7 условных единиц.

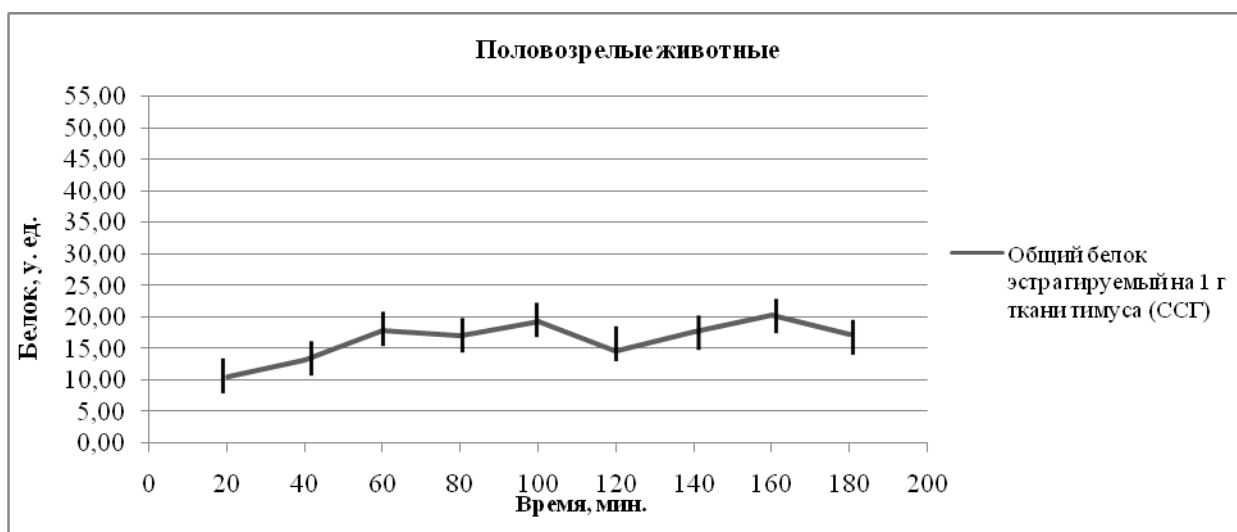


**Рис. 47** Динамика содержания альбумина в ткани тимусе половозрелых интактных крыс

Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано четыре достоверных максимума уровня альбумина в ткани на 60-й, 100-й, 120-й, 160-й минутах (рис. 47). Среднее содержание альбумина в тимусе половозрелых интактных животных составляет 10,4 условных единиц.

В условиях токсического стресса среднее содержание общего белка в ткани тимуса половозрелых крыс соответствует 16,4 условных единиц (рис. 48). При хронической ингаляции природного газа в течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка на 60-й,

100-й, 140-й и 160-й минутах. На протяжении первых 60 минут наблюдения происходит подъем уровня общего белка до 17,8 условных единиц.



**Рис. 48 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани тимуса половозрелых крыс, подвергшихся воздействию ССГ**

Затем его количество снижается и второй раз увеличение показателя регистрируется к 120-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 19,3 сравнимых единиц. Третий пик активности приходится на 140-ю минуту, когда показатель возрастает до 17,6 условных единиц. К 160-й минуте эксперимента регистрируется максимальное количество содержания общего белка в ткани, достигающего 20,3 сравнимых единиц.

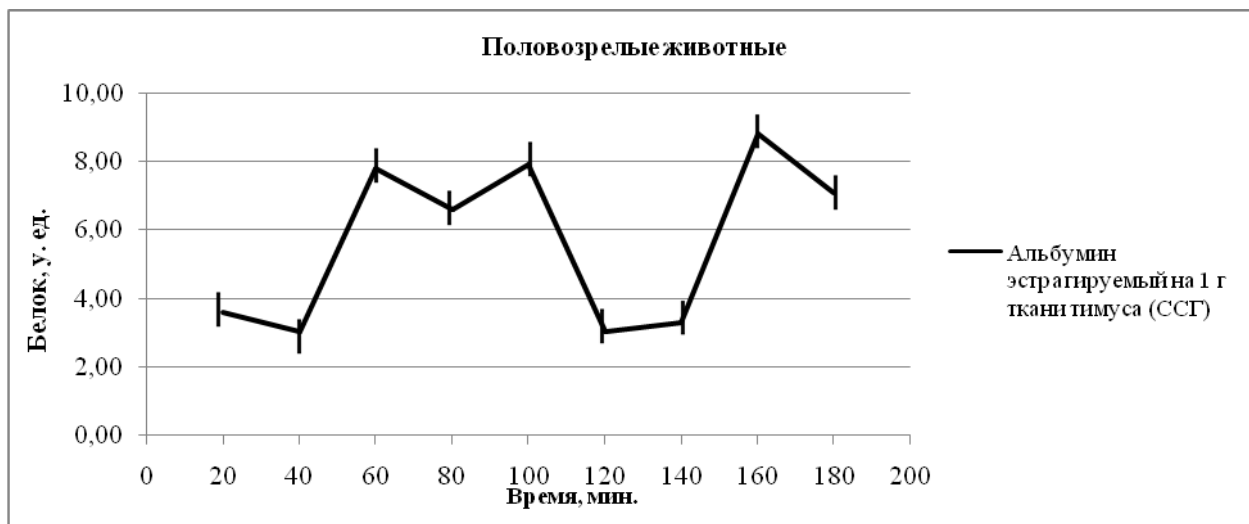
**Таблица 11**

Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани тимуса половозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Тимус	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	29,0±2,1	36,5%	20-40 мин
	ССГ	16,4±6,0*	24%	20-40 мин
	ССГ+АО	40,5±10,5 <sup>0#</sup>	26%	20-40 мин
Альбумин	К	10,4±2,0	37%	20-40 мин
	ССГ	5,7±1,4*	53%	40-60 мин
	ССГ+АО	12,0±2,9 <sup>0#</sup>	69%	20-40 мин

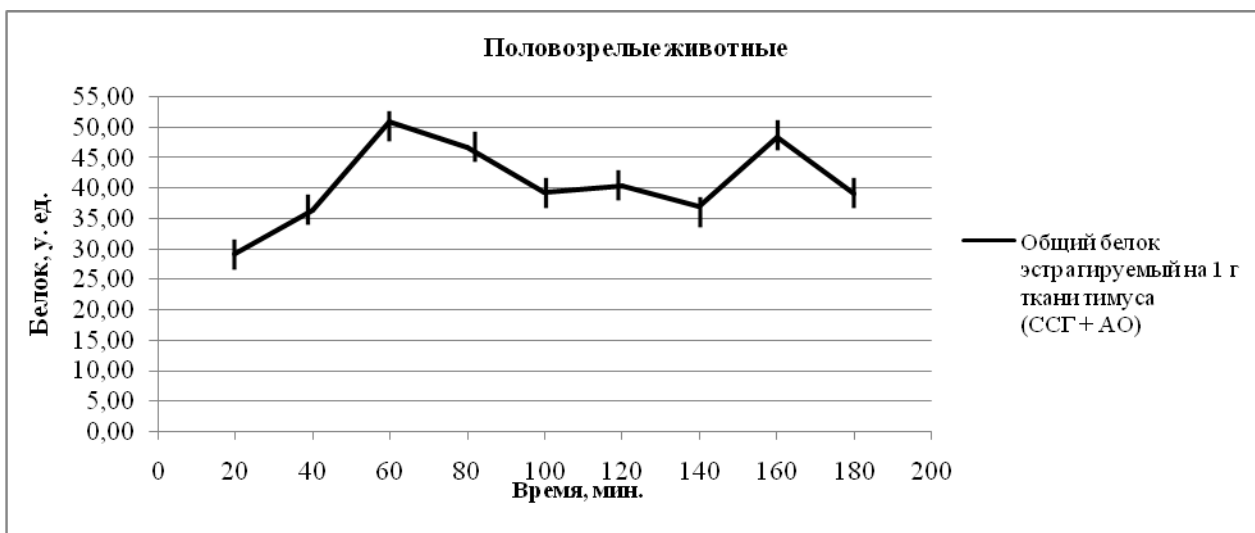
*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Амплитуда колебаний уровня общего белка в вилочковой железе половозрелых животных, подвергшихся стрессу, составила около 24% от среднего с периодами в 40 и 20 минут.



**Рис. 49** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса половозрелых крыс, подвергшихся воздействию ССГ

На кинетической кривой (рис. 49) зарегистрировано 3 достоверных пика повышения уровня альбумина в ткани тимуса половозрелых крыс при токсическом воздействии на 60-й, 100-й и 160-й минуте наблюдения. Среднее содержание этого белка составило 5,7 условных единиц. На протяжении 40 минут наблюдения количество альбумина достоверно не изменялось, а на 60-й минуте повышается до 7,8 условных единиц. На 100-й минуте наблюдения регистрируется второй пик ритмической активности, когда количество изучаемого белка возрастает до 7,9 условных единиц. Затем на протяжении 20 минут отмечается снижение показателя до 3,04 условных единиц и в течении 20 минут наблюдения вновь достоверно не изменяется. Третий подъем уровня альбумина происходит до 8,8 условных единиц, достигая максимума на кинетической кривой к 160-й минуте. Амплитуда колебаний альбумина в ткани тимуса при этом составила 53% от среднего, что на 16% выше контроля (табл. 11). Периоды колебаний в 40 и 60 минут.



**Рис. 50 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани тимуса половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

Таким образом, в ткани тимуса половозрелых животных в условиях стресса динамика содержания общего белка и альбумина сохраняет окологосовую периодичность. Тем не менее, на фоне хронической гипоксии наблюдается выраженное угнетение синтеза изучаемых белков.

Так, по сравнению с контролем снижение содержания общего белка происходит на 77% и альбумина на 45% от среднего. Токсическое воздействие приводит к снижению амплитуды колебаний общего белка на 12,5%, но к увеличению амплитуды колебаний альбумина на 16% (табл. 11), что тем самым модифицирует ритмическую кривую и связано, вероятно, с его основной функцией транспортного белка.

Как показал анализ ритмической кривой (рис. 50), среднее содержание общего белка составляет 40,5 условных единиц. За время наблюдения отмечается четыре пика ритмической активности на 40-й, 60-й, 120-й и 160-й минуте. На протяжении первых 40 минут наблюдения происходит увеличение уровня общего белка до 36,3 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 60-й минуте наблюдения, когда количество общего белка увеличивается до 50,9 сравнимых единиц, достигая максимума на кинетической кривой. Затем на протяжении 40 минут происходит снижение

его содержания в ткани до 39,3 условных единиц. К 120-й минуте показатель увеличивается до 40,4 сравнимых единиц. Четвертый пик активности регистрируется на 160-й минуте наблюдения, когда уровень общего белка возрастает до 48,4 условных единиц. Амплитуда колебаний его при этом составила 26% от среднего с периодичностью в 20 и 40 минут.



**Рис. 51** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащего природного газа АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов

На хронограмме (рис. 51) выявлен окологчасовой ритм содержания альбумина в тимусе половозрелых животных с амплитудой 69% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут. На протяжении 60 минут наблюдения регистрируется рост показателя до максимального значения 20,6 условных единиц. Затем уровень альбумина постепенно снижается и к 80-й минуте составляет 14,3 условных единиц. Следующий подъем регистрируется к 100-й минуте наблюдения, когда показатель повышается до 15,1 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения происходит снижение уровня альбумина до 7,2 условных единиц. Затем количество изучаемого белка увеличивается еще дважды на 140-й минуте до 14,03 и на 180-ой минуте до 9,2 условных единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума

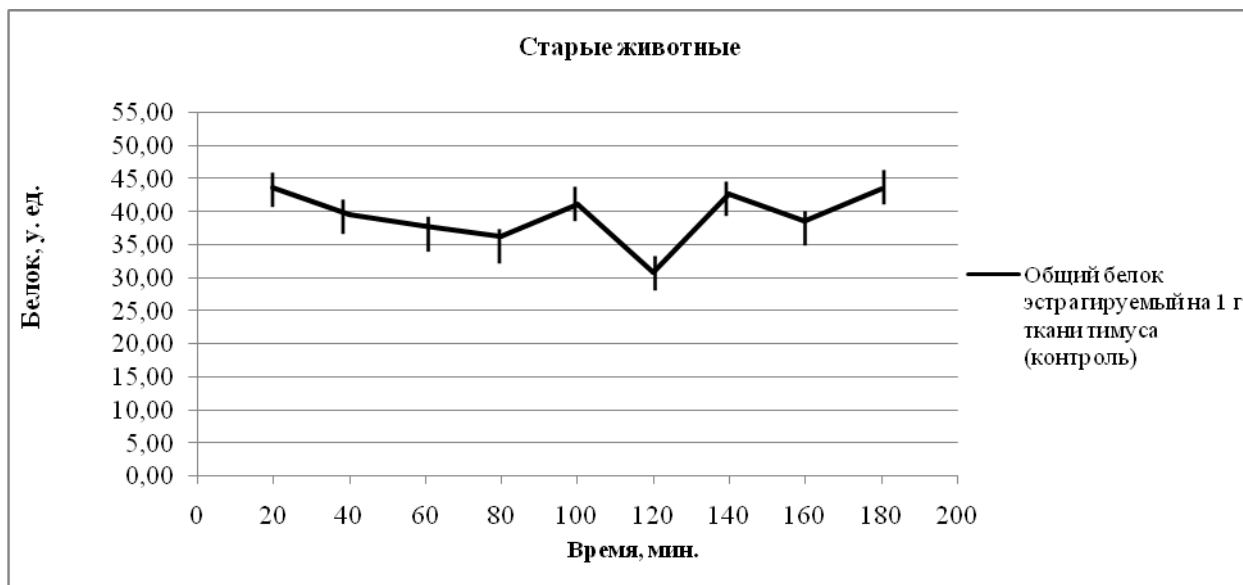
содержания альбумина в ткани на 40-й, 60-й, 100-й, 140-й и 180-й минутах (рис. 51). Среднее содержание альбумина в тимусе половозрелых крыс, подвергшихся стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов, составляет 12,0 условных единиц.

Таким образом, у половозрелых животных в условиях хронической гипоксии, вызванной воздействием сероводородсодержащим природным газом, на фоне введения антиоксидантов происходит модификация околочасовых осцилляций в тимусе. Формирующаяся ответная реакция ткани вилочкой железы характеризуется увеличением уровня среднего содержания, как общего белка, так и альбумина. Применяемый в эксперименте комплекс антиоксидантов (тималин и витамин Е) обладает выраженным адаптогенным действием, так как способствовал увеличению амплитуды ритмических колебаний, а так же повышению активности ферментных систем необходимых для синтеза изучаемых белков.

#### **4.2.3 Старые животные**

На кинетической кривой (рис. 52) зарегистрированы ритмические колебания уровня содержания общего белка в тимусе старых интактных крыс. Как показал анализ хронограммы, среднее содержание белка составляет 39,4 условных единиц. На 20-й минуте наблюдения регистрируется увеличение показателя до 43,7 условных единиц, достигая максимального значения. На протяжении последующих 60 минут наблюдения происходит снижение уровня общего белка до 36,3 условных единиц. К 100-й минуте регистрируется второй подъем его содержания в ткани до 41,2 сравнимых единиц. На 140-й и 180-й минуте наблюдения показатель повышается еще дважды - до 42,7 и 43,5 условных единиц соответственно. Таким образом, у старых интактных животных зарегистрировано четыре пика ритмической активности общего белка в ткани тимуса на 20-й, 100-й, 140-й и 180-й минутах наблюдения. Амплитуда

колебаний при этом его составила около 11% от среднего с периодичностью в 40 и 60 минут.



**Рис. 52 Динамика содержания общего белка в ткани тимуса старых интактных крыс**

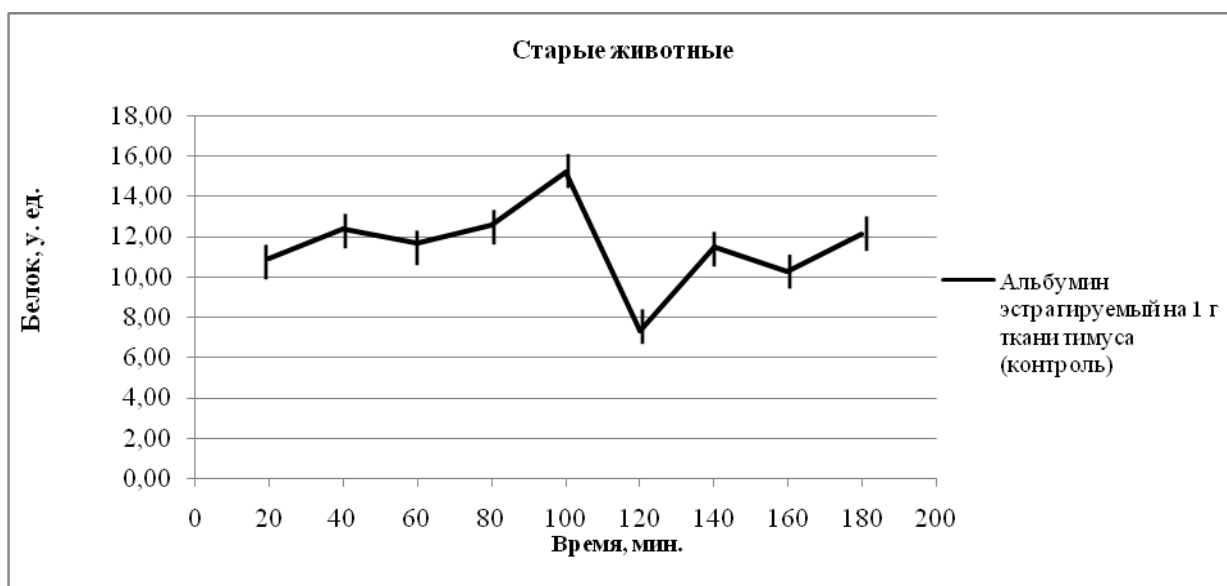
На хронограмме (рис. 53) выявлен окологасовой ритм уровня содержания альбумина в тимусе старых интактных животных с амплитудой около 27% от среднего с периодами колебаний в 40 минут. Нами зарегистрировано пять достоверно высоких пика содержания альбумина. На 40-й минуте наблюдения происходит увеличение его уровня до 12,4 условных единиц. На 60-й минуте происходит снижение количества альбумина до 11,7 сравнимых единиц. Затем к 100-й минуте вновь регистрируется повышение этого показателя до 15,2 условных единиц, достигая максимума. На кинетической кривой содержание альбумина увеличивается еще дважды – на 140-й и 180-й минутах наблюдения до 11,5 и 12,1 сравнимых единиц соответственно.

Среднее содержание альбумина в ткани тимуса старых интактных животных составляет 12,0 условных единиц.

В условиях токсического стресса среднее содержание общего белка в тимусе старых крыс соответствует 35,0 условным единицам.



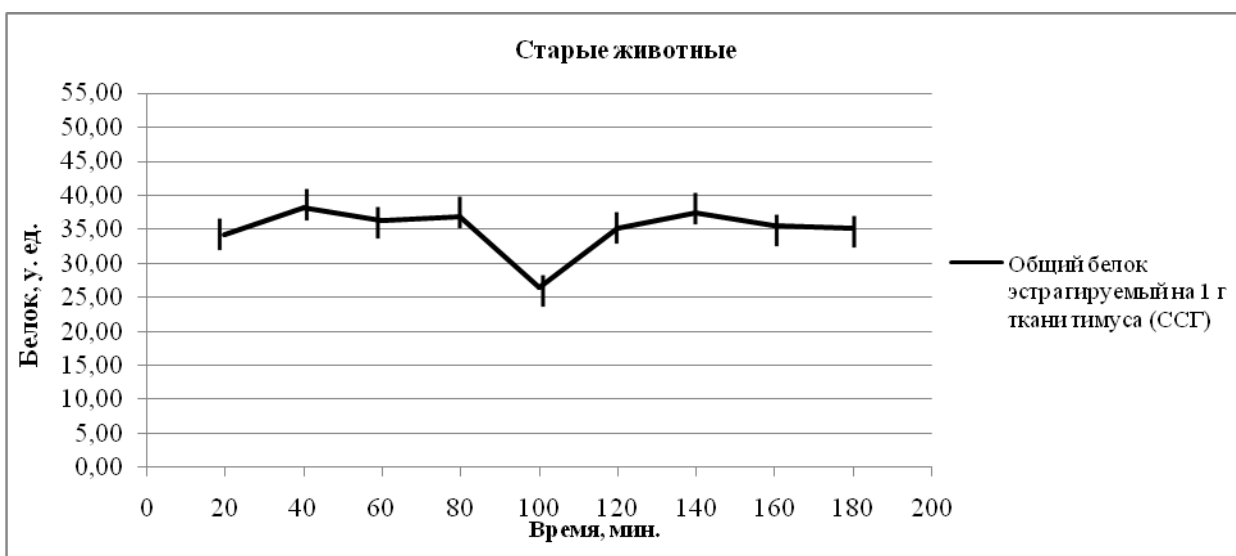
На протяжении 40 минут наблюдения регистрируется увеличение уровня общего белка в ткани, в результате чего показатель повышается до 38,1 сравнимых единиц, достигая максимального значения. Затем количество изучаемого белка снижается до 36,3 условных единиц и на протяжении 40 минут достоверно не изменяется, а на 100-й минуте снижается до 26,4 условных единиц.



**Рис. 53** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса старых интактных крыс

Второй подъем регистрируется к 120-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 35,2 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения показатель продолжает увеличиваться, достигая 37,4 сравнимых единиц.

Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрированы три достоверных максимума содержания общего белка в вилочковой железе на 40-й, 120-й и 140-й минутах (рис. 54). Амплитуда колебаний содержания общего белка в ткани тимуса старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу, составила около 9% от среднего с периодами в 20 и 40 минут.



**Рис. 54 Ритмические колебания уровня содержания общего белка в ткани тимуса старых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

**Таблица 12**

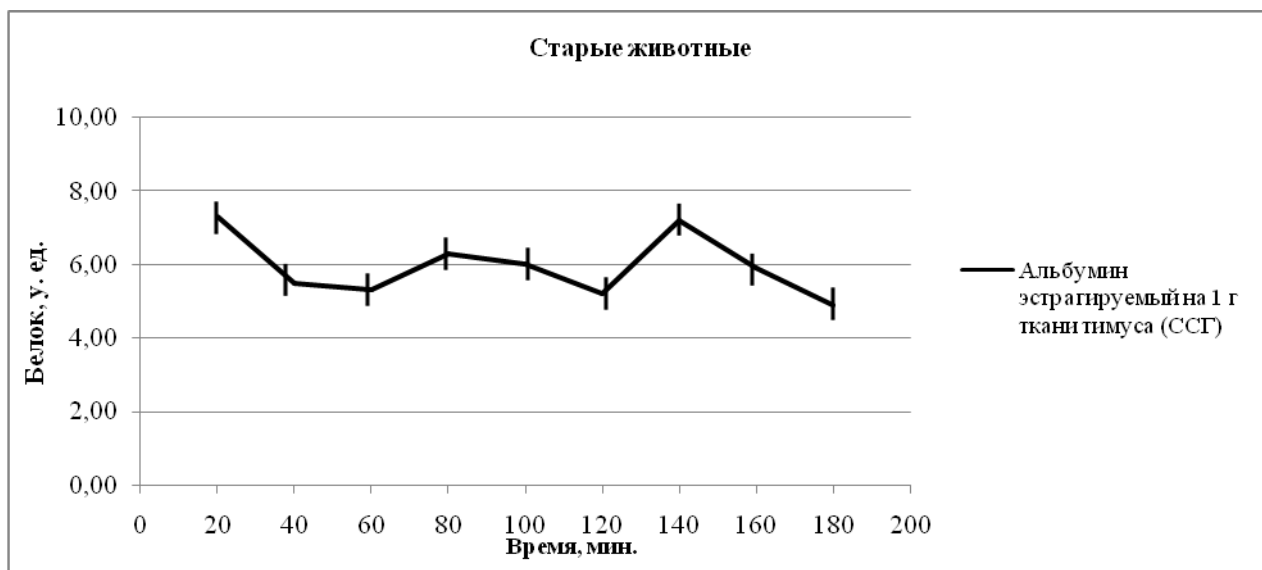
Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани тимуса старых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Тимус	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	39,4±1,7	11%	40-60 мин
	ССГ	35,0±1,6*	9%	20-40 мин
	ССГ+АО	38,4±0,6 <sup>0#</sup>	23%	20-40 мин
Альбумин	К	12,0±2,4	27%	40 мин
	ССГ	6,0±1,9*	22%	60 мин
	ССГ+АО	14,0±3,6 <sup>0#</sup>	31%	20-40 мин

*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

На кинетической кривой (рис. 55) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в тимусе старых животных, подвергшихся воздействию природного газа. Среднее количество альбумина снижается по сравнению с контролем на 48% и составило 6,0 условных единиц. Через 20 минут наблюдения его уровень возрастает до максимума и составил 7,3 условных единиц. Затем на протяжении 20 минут количество этого белка в ткани снижается до 5,5 сравнимых единиц и к 60-й минуте достоверно не

изменяется. На 80-й минуте показатель увеличивается до 6,3 условных единиц. Третий подъем ритмической активности регистрируется на 140-й минуте, когда содержание альбумина в ткани повышается до 7,2 условных единиц. Затем происходит снижение его уровня, достигая своего минимума к 180-й минуте, и составляет 4,9 сравнимых единиц. Амплитуда колебаний содержания альбумина в тимусе старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу, составила около 22% от среднего с периодом в 60 минут.

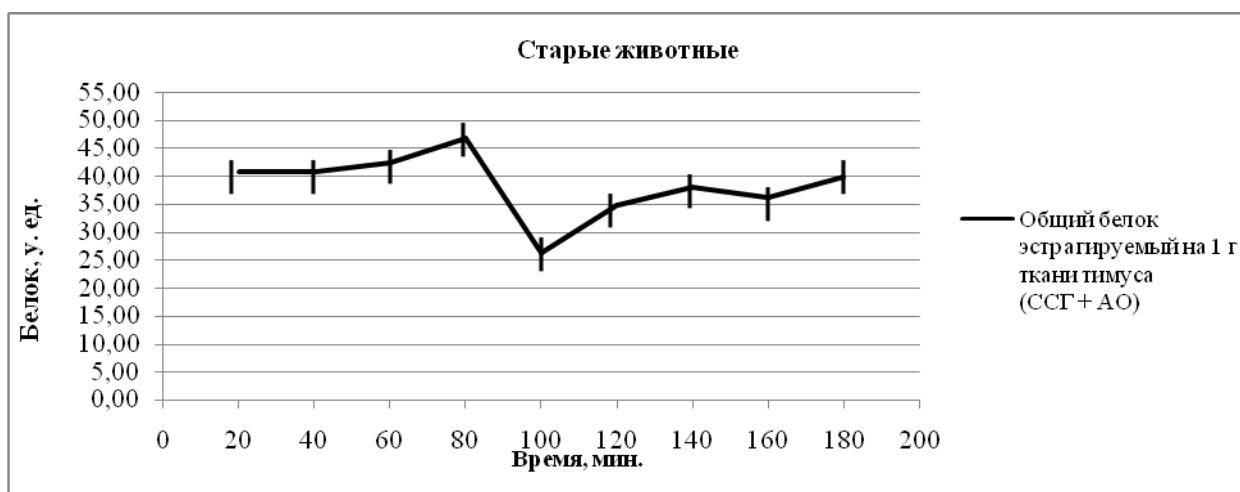


**Рис. 55** Динамика содержания альбумина в ткани тимуса старых крыс, подвергшихся воздействию ССГ

Таким образом, в тимусе старых животных в условиях стресса кинетическая кривая, регистрирующая содержание альбумина на описанных выше временных промежутках приобретает монотонный характер. Динамика содержания общего белка в ткани продолжает сохранять окологоризонтальную периодичность. Токсическое воздействие приводит к снижению амплитуды колебаний, как общего белка, так и альбумина на 2% и 5% соответственно (табл. 12), что тем самым так же модифицирует ритмическую кривую. На фоне хронической гипоксии наблюдается подавление ферментных систем и транспорта клеточных белков, что сопровождается угнетением функциональной активности, как на клеточном, так и тканевом уровнях. В результате эксперимента, зарегистрировано снижение содержания общего

белка на 11% и альбумина на 48% от среднего в сравнении с контрольными значениями рассматриваемой группы животных (табл. 12).

Как показал анализ ритмической кривой (рис. 56) в условиях хронической ингаляции сероводородсодержащего природного газа на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата среднее содержание общего белка в тимусе составило 38,4 условных единиц.



**Рис. 56 Ритмические колебания содержания общего белка в тимусе старых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

За время наблюдения отмечается четыре достоверных пика ритмической активности на 80-й, 120-й, 140-й и 180-й минутах. На протяжении 40 минут наблюдения содержание общего белка в ткани достоверно не изменяется и соответствует 40,7 условных единиц. К 80-й минуте наблюдения происходит повышение его количества, и показатель достигает максимума – 46,8 сравнимых единиц. Затем регистрируется снижение уровня общего белка к 100-й минуте наблюдения до минимума 26,3 условных единиц. Второй подъем уровня общего белка происходит к 140-й минуте, когда показатель возрастает до 38,1 условных единиц. Третий пик повышения содержания общего белка до 39,8 условных единиц регистрируется на 180-й минуте наблюдения. Амплитуда колебаний при этом его составила 23% от среднего с периодичностью в 40 и 20 минут.

На хронограмме (рис. 57) выявлен околочасовой ритм содержания альбумина в тимусе старых животных с амплитудой 31% от среднего с периодами колебаний в 40 и 20 минут. На 20-й минуте наблюдения показатель возрастает до 17,6 условных единиц. Затем на протяжении 40 минут наблюдения регистрируется увеличение уровня альбумина до 18,7 сравнимых единиц, достигая максимального значения. Затем показатель постепенно снижается и к 100-й минуте составляет 9,8 условных единиц.



**Рис. 57** Динамика содержания альбумина в тимусе старых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ на фоне введения комплекса антиоксидантов

Следующий подъем регистрируется к 120-й минуте наблюдения, когда уровень альбумина в ткани повышается до 16,5 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения показатель вновь снижается, достигая минимума - 8,3 условных единиц. Затем содержание альбумина повышается еще дважды на 160-ой минуте до 9,8 сравнимых единиц и на 180-й минуте до 14,4 условных единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума содержания этого белка на 20-й, 80-й, 120-й, 160-й и 180-й минутах (рис. 57). В тимусе старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов, среднее содержание альбумина составило 14,0 условных единиц.

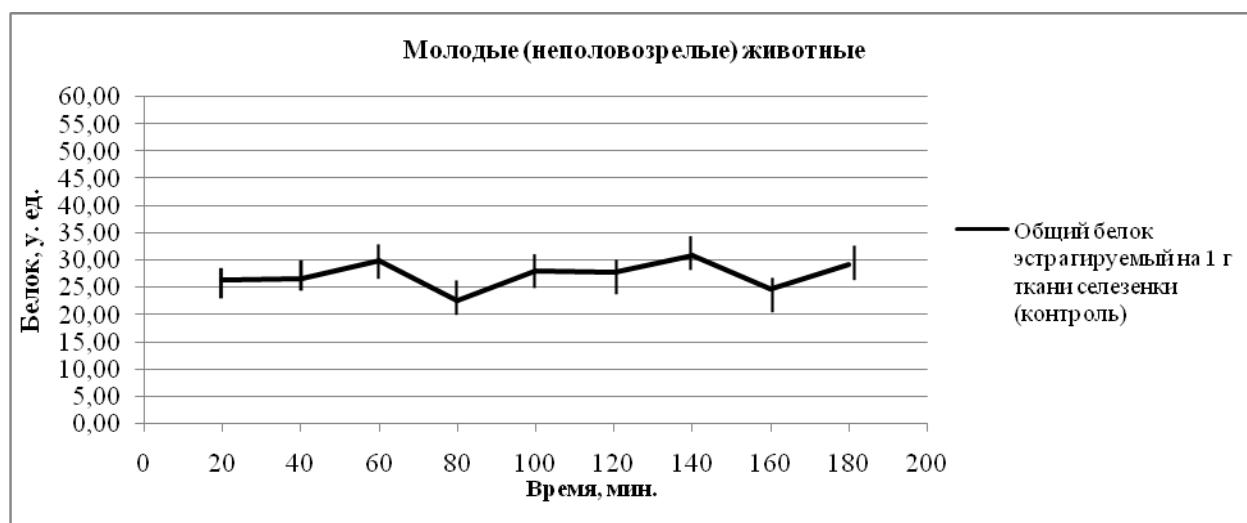
На основании выше изложенного, можно сделать вывод, что у старых животных в результате инволюции тимуса ответная реакция к экзогенному токсическому воздействию при введении тималина и альфа-токоферола ацетата проявляется в стабилизации компенсаторных возможностей ткани. Свидетельством этого является увеличение среднего содержания общего белка на 9,7% и альбумина на 133% в сравнении с подгруппой ССГ (табл.12). Кроме того, на кинетических кривых регистрируются так же повышение амплитуды колебаний общего белка на 14% и альбумина на 9% (рис. 56, 57).

Сравнивая возрастные особенности модификации ритмических кривых, можно сделать вывод, что у половозрелых животных амплитуда колебаний изучаемых белков тимуса ниже, чем у молодых, что вероятно связано с более «экономным» режимом работы тимоцитов и высокой степенью их синхронизации. У старых крыс снижение амплитуды колебаний общего белка и альбумина в сравнении, как с половозрелыми, так и с молодыми группами животных на всех стадиях эксперимента связано, по-видимому, с происходящими в тимусе инволюционными процессами.

### 4.3 Онтогенетические аспекты околочасовых клеточных ритмов изучаемых белков в ткани селезенки

#### 4.3.1 Молодые (неполовозрелые) животные

На кинетической кривой (рис. 58) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки молодых интактных крыс. Как показал анализ хронограммы, среднее содержание белка составляет 21,0 условных единиц. На протяжении 60 минут наблюдения показатель возрастает до 29,9 сравнимых единиц. К 80-й минуте происходит снижение уровня общего белка до минимума и составило 22,7 условных единиц. Затем к 100-й минуте наблюдения регистрируется увеличение содержания изучаемого белка, в результате чего показатель возрастает до 28,1 сравнимых единиц. На 140-й минуте зарегистрирован максимум ритмической активности – 30,9 условных единиц. К 160-й минуте происходит снижение количества общего белка до 24,7 сравнимых единиц, а на 180-й минуте вновь регистрируется подъем показателя до 29,3 условных единиц. Таким образом, у молодых интактных животных зарегистрировано четыре достоверных пика ритмической активности общего белка в ткани селезенки на 60-й, 100-й, 140-й и 180-й минуте наблюдения. Период колебаний его составил 40 минут с амплитудой около 47% от среднего.



**Рис. 58** Динамика содержания общего белка в ткани селезенки молодых (неполовозрелых) интактных крыс

На хронограмме (рис. 59) выявлен окологочасовой ритм содержания альбумина в селезенке молодых интактных животных с амплитудой около 34% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

Нами зарегистрировано увеличение уровня альбумина на 20-й минуте наблюдения до 8,7 условных единиц. К 40-й минуте происходит снижение показателя до минимума, достигая 4,02 сравнимых единиц. Затем наблюдается увеличение содержания альбумина в ткани, в результате чего показатель возрастает до 10,2 условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения количество белка снижается до 7,9 условных единиц.



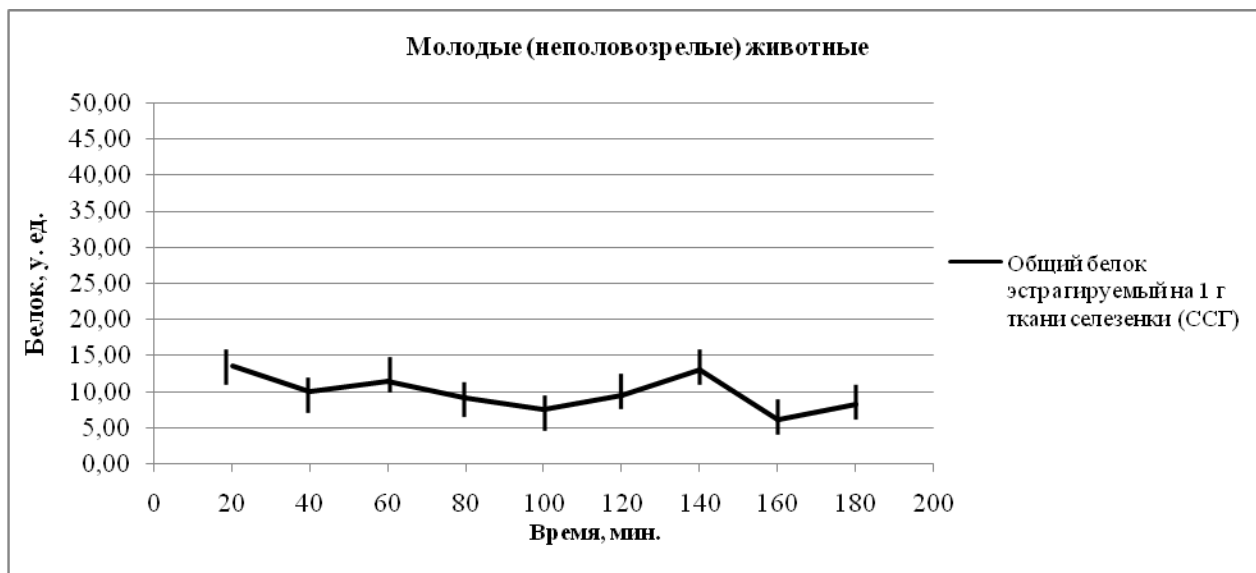
**Рис. 59 Ритмические колебания содержания альбумина в ткани селезенки молодых (неполовозрелых) интактных крыс**

Третий подъем уровня альбумина достигает максимума к 140-й минуте, когда показатель увеличивается до 11,8 сравнимых единиц. Четвертый пик повышения количества изучаемого белка регистрируется к 180-й минуте, достигая 10,3 условных единиц. Среднее содержание альбумина в селезенке молодых интактных животных составляет 8,8 условных единиц.

В условиях стресса среднее содержание общего белка в селезенке молодых крыс составляет 9,8 условных единиц. В течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка в ткани на 20-й, 60-й, 120-й, 140-й и 180-й минутах (рис. 60).



На 20-й минуте регистрируется максимальный подъем уровня общего белка в селезенке до 13,5 сравнимых единиц. Затем показатель снижается до 10,1 условных единиц. На 60-й минуте наблюдения вновь происходит увеличение содержания общего белка до 11,4 сравнимых единиц.

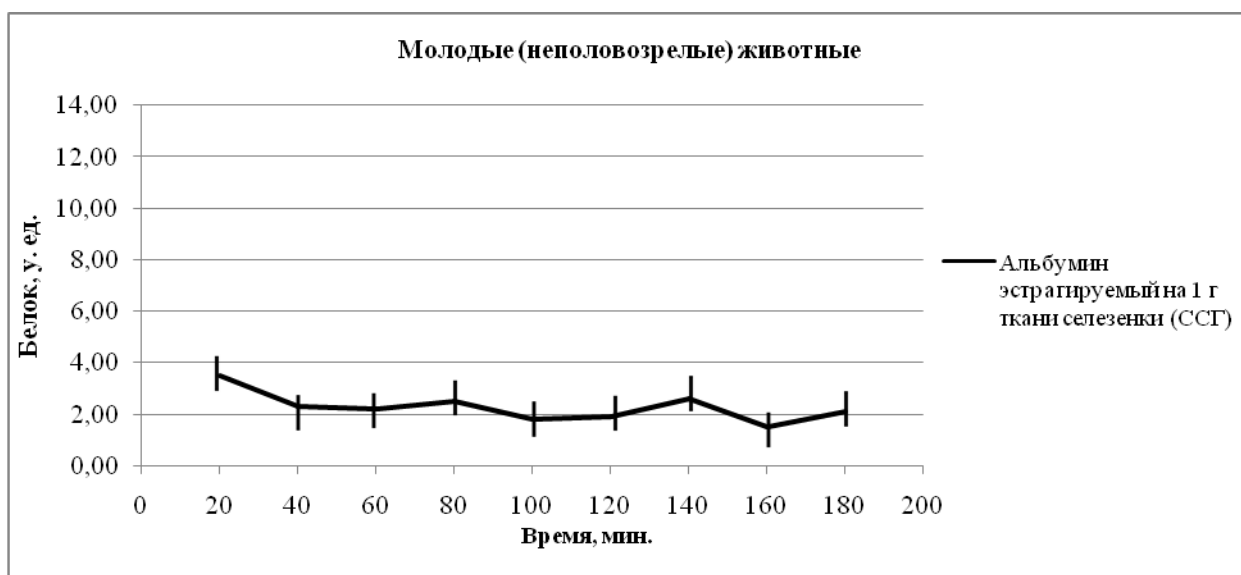


**Рис. 60 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки молодых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения показатель вновь снижается, достигая 7,6 условных единиц. Затем количество общего белка в ткани повышается еще дважды на 120-ой минуте до 9,4 сравнимых единиц и на 140-й минуте до 13,1 условных единиц. Пятый пик ритмической активности зарегистрирован на 180-й минуте, когда показатель возрастает до 8,3 условных единиц. Периоды колебаний общего белка в селезенке составили 40 и 60 минут с амплитудой около 38% от среднего.

При анализе хронограммы (рис. 61) зарегистрировано четыре достоверных пика повышения уровня альбумина в условиях стресса на 20-й, 80-й, 140-й и 180-й минуте наблюдения. Максимальное его содержание в селезенке регистрируется на 20-й минуте, когда показатель повышается до 3,5 условных единиц. Затем к 60-й минуте количество альбумина в ткани снижается до 2,2 условных единиц. На 80-й минуте показатель увеличивается до 2,5 сравнимых единиц. Затем содержание альбумина вновь повышается

еще дважды на 140-й и 180-й минутах наблюдения до 2,6 и до 2,1 условных единиц.



**Рис. 61 Динамика содержания альбумина в ткани селезенки молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащим природным газом АГКМ**

К 160-й минуте регистрируется снижение показателя до 2,6 условных единиц, достигая минимума. Среднее содержание альбумина в ткани составило 2,3 условных единиц, с периодами колебаний в 40 и 60 минут. Амплитуда колебаний соответствует 52% от среднего.

Таким образом, на представленных хронограммах нами зарегистрировано сохранение околичасовой периодичности содержания общего белка и альбумина в селезенке молодых животных в условиях хронической гипоксии. Сероводородсодержащий природный газ вызывает выраженное угнетение синтеза изучаемых белков. В сравнении с контролем при токсическом воздействии происходит снижение содержания общего белка на 53% и альбумина на 74% от среднего. Так же при этом происходит снижение амплитуды колебаний общего белка на 9%, но регистрируется увеличение амплитуды колебаний альбумина на 18% (табл. 13).

Очевидно, что модификация кинетической кривой уровня альбумина в ткани селезенки связана с его функцией – основного транспортного белка.

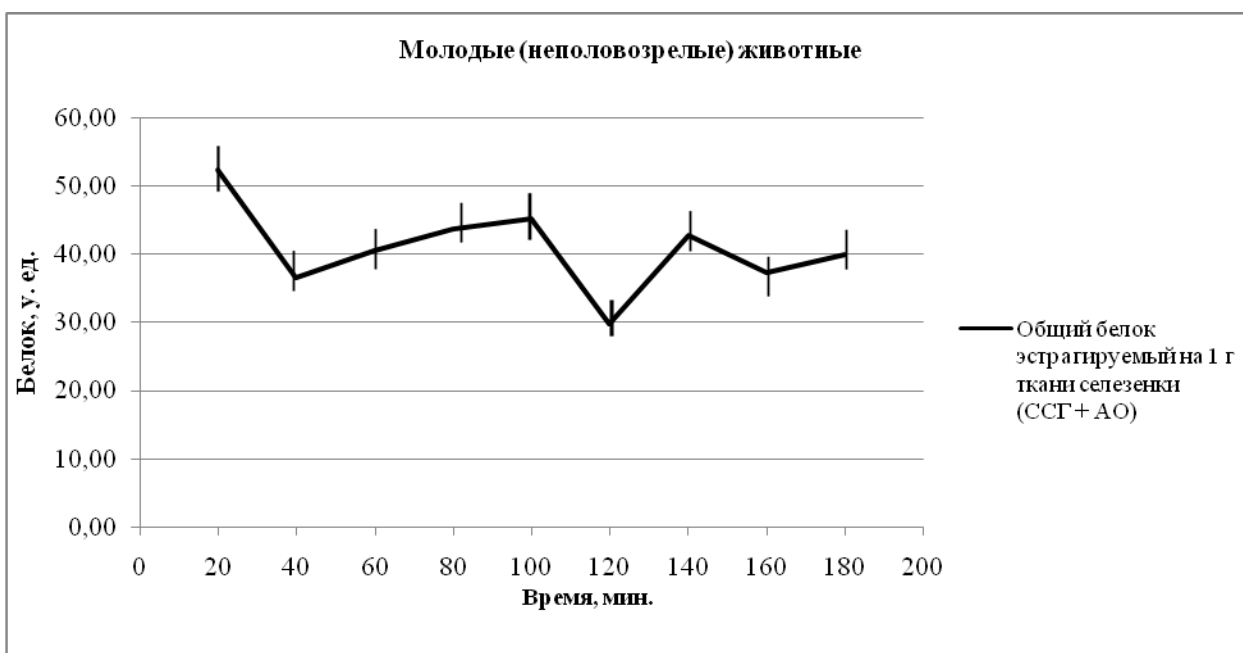
Содержание общего белка и альбумина в ткани селезенки  
неполовозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и  
введению комплекса антиоксидантов

Селезенка	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	21,0±7,9	47%	40 мин
	ССГ	9,8±6,1 <sup>*</sup>	38%	40-60 мин
	ССГ+АО	40,0±14,0 <sup>0#</sup>	31%	20-40 мин
Альбумин	К	8,8±3,1	34%	20-40 мин
	ССГ	2,3±1,0 <sup>*</sup>	52%	40-60 мин
	ССГ+АО	15,0±6,3 <sup>0#</sup>	54%	20-40 мин

*Примечание:* <sup>\*</sup>p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; <sup>#</sup>p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

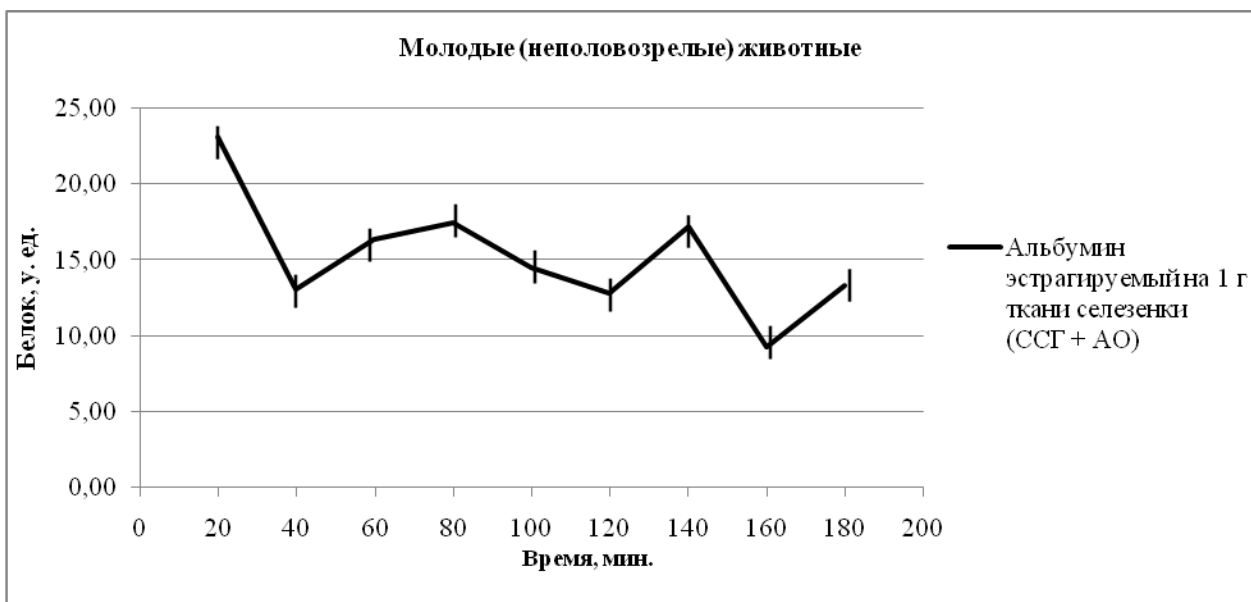
Как показал анализ ритмической кривой (рис. 62) в условиях хронической ингаляции природного газа на фоне введения комплекса тималина и альфа-токоферола ацетата среднее содержание общего белка в селезенке составило 40,0 условных единиц.

За время наблюдения отмечается максимальная ритмическая активность на 20-й, 60-й, 80-й, 100-й, 140-й и 180-й минутах. На 20-й минуте наблюдения происходит увеличение уровня общего белка до 52,3 условных единиц. Затем показатель снижается до 36,6 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 60 минут наблюдения происходит повышение его содержания в ткани селезенки, в результате чего показатель возрастает до 45,2 условных единиц. После снижения количества изучаемого белка к 120-й минуте до 29,8 сравнимых единиц, вновь регистрируется на 140-й минуте увеличение содержания общего белка до 42,8 условных единиц. К 180-й минуте наблюдения происходит подъем ритмической активности, при этом показатель увеличивается до 39,9 условных единиц. Амплитуда колебаний общего белка в ткани селезенки составила 31% от среднего с периодичностью в 20 и 40 минут.



**Рис. 62 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки молодых (неполовозрелых) крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

На хронограмме (рис. 63) выявлен окологосовой ритм содержания альбумина в селезенке молодых животных с амплитудой около 54% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут. На 20-й минуте наблюдения регистрируется максимальный подъем показателя до 23,1 сравнимых единиц. Затем количество альбумина в ткани снижается и к 40-й минуте составляет 13,1 условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут уровень изучаемого белка повышается дважды на 60-й и 80-й минутах наблюдения - до 16,4 и 17,5 условных единиц соответственно. К 120-й минуте происходит снижение содержания альбумина до 12,8 сравнимых единиц. Затем показатель вновь увеличивается еще дважды на 140-й и 180-й минутах наблюдения - до 17,2 и 13,3 условных единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума содержания альбумина в ткани на 20-й, 60-й, 80-й, 140-й и 180-й минутах (рис. 63). Среднее содержание альбумина в селезенке молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата, составило 15,0 условных единиц.



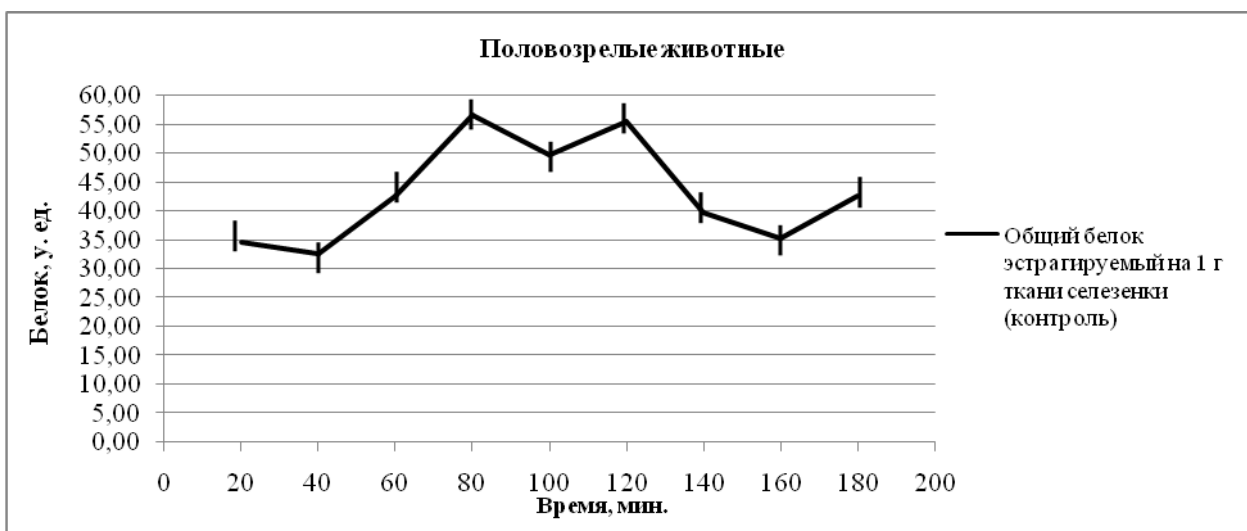
**Рис. 63** Динамика содержания альбумина в ткани селезенки молодых крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов

Таким образом, у молодых крыс при гипоксии, вызванной воздействием природного газа, на фоне введения антиоксидантов происходит модификация околочасовых осцилляций в селезенке. Формирующаяся ответная реакция ткани характеризуется увеличением среднего содержания общего белка в 4 раза, а альбумина в 6,5 раза от среднего значения в условиях стресса (табл. 13). Применяемый в эксперименте комплекс антиоксидантов способствовал увеличению амплитуды колебаний альбумина на 2%, но при этом зарегистрировано снижение амплитуды общего белка на 7% в сравнении с подгруппой ССГ (табл. 13). Данный факт свидетельствует о низкой степени синхронизации клеток в ткани селезенки молодых животных, что обеспечивало бы их функционирование при токсическом воздействии.

#### 4.3.2 Половозрелые животные

На кинетической кривой (рис. 64) зарегистрированы околочасовые колебания содержания общего белка в селезенке половозрелых интактных крыс. Как показал анализ хронограммы, средний уровень общего белка составляет 43,0 условных единиц. За время наблюдения отмечается пять

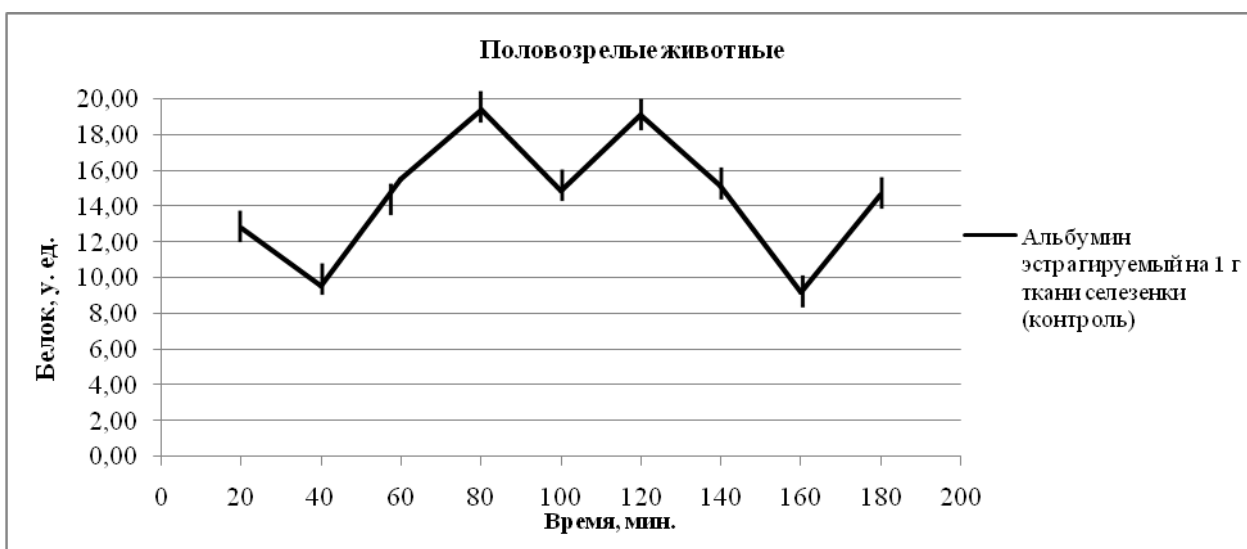
достоверных пика ритмической активности на 20-й, 60-й, 80-й, 120-й и 180-й минутах. К 20-й минуте наблюдения происходит увеличение количества общего белка до 34,7 условных единиц. Второй подъем регистрируется на 60 - й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 42,6 сравнимых единиц. Третий пик активности происходит на 80-й минуте, при этом показатель возрастает до 56,6 условных единиц, достигая максимума. Четвертый подъем уровня общего белка до 55,6 условных единиц регистрируется на 120-й минуте.



**Рис. 64** Динамика содержания общего белка в ткани селезенки половозрелых интактных крыс

Снижение содержания общего белка регистрируется к 140-й минуте до 35,2 условных единиц. Затем показатель вновь увеличивается на 180-й минуте наблюдения - до 42,7 условных единиц. Амплитуда колебаний содержания общего белка в селезенке половозрелых интактных крыс составила 31% от среднего с периодами в 20 и 40 минут.

На хронограмме (рис. 65) выявлен окологосударственный ритм содержания альбумина в селезенке половозрелых интактных животных с амплитудой около 36% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут.



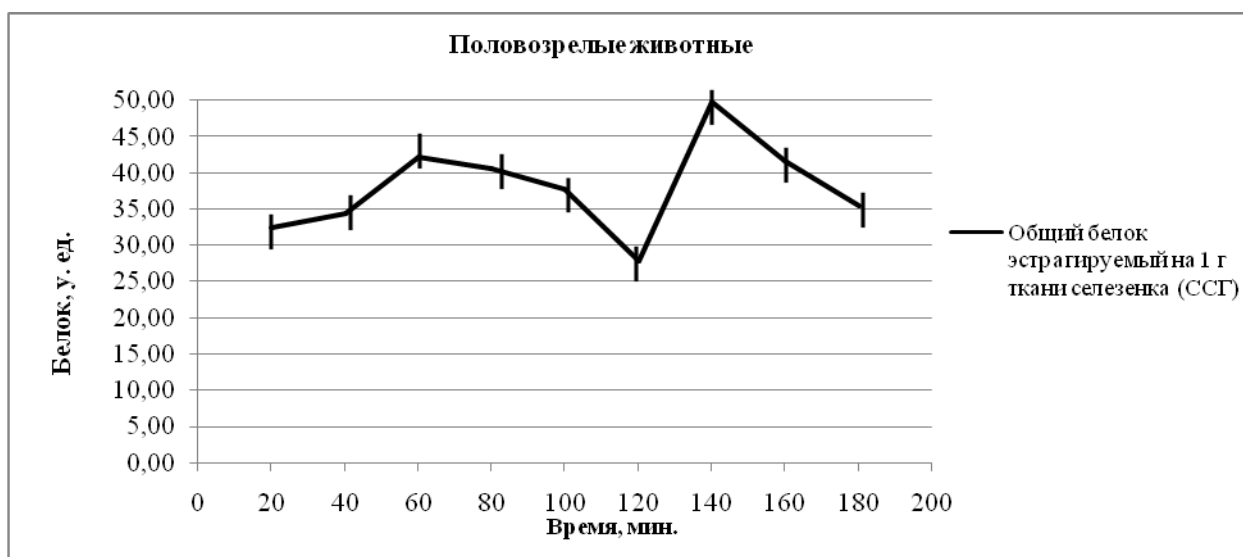
**Рис. 65 Ритмические колебания содержания альбумина в ткани селезенки половозрелых интактных крыс**

На первых 20-ти минут наблюдения уровень белка составил 12,8 условных единиц. Затем количество альбумина в ткани постепенно снижается, и к 40-й минуте достигает 9,5 условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут наблюдения показатель повышается еще дважды на 60-й и 80-й минутах до 15,5 и 19,4 сравнимых единиц соответственно. Следующий подъем содержания альбумина в ткани зарегистрирован к 120-й минуте, достигая 19,1 условных единиц. Затем количество изучаемого белка на протяжении дальнейших 40 минут наблюдения снижается, и на 160-й минуте составляет 9,2 сравнимых единиц. К 180-й минуте наблюдения показатель увеличивается до 14,7 условных единиц.

Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума уровня альбумина в ткани на 20-й, 60-й, 80-й, 120-й, 180-й минутах (рис. 65). Среднее содержание альбумина в селезенке половозрелых интактных крыс составляет 14,0 условных единиц.

В условиях стресса в течение 180 минут наблюдения зарегистрированы максимумы содержания общего белка на 20-й, 40-й, 60-й, и 140-й минутах (рис. 66). Среднее содержание общего белка в ткани селезенки половозрелых крыс составило 38,0 условных единиц. На протяжении первых 60 минут наблюдения происходит увеличение уровня общего белка до 42,1 условных

единиц. Затем отмечается постепенное снижение показателя до минимального значения – 27,8 сравнимых единиц.



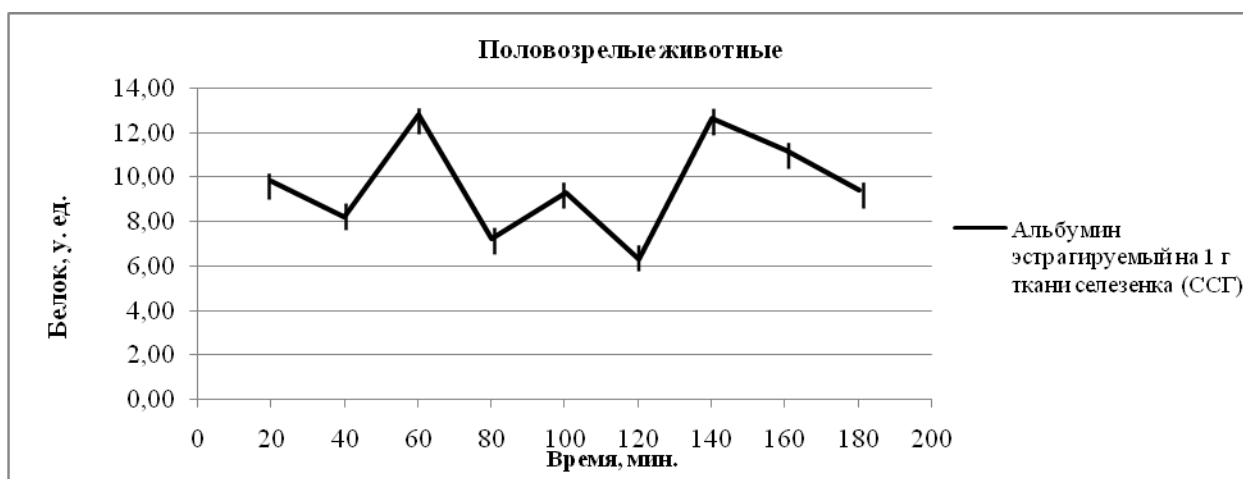
**Рис. 66 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки половозрелых крыс, подвергшихся воздействию сероводородсодержащего природного газа АГКМ**

Следующий подъем регистрируется к 140-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка повышается до 49,8 условных единиц. Третий пик ритмической активности приходится на 140-ю минуту, когда показатель возрастает до 17,6 условных единиц. На протяжении дальнейших 40 минут эксперимента регистрируется снижение количества изучаемого белка, при этом к 180-й минуте показатель достигает 35,5 сравнимых единиц. Амплитуда колебаний содержания общего белка в ткани селезенки половозрелых животных, подвергшихся хронической ингаляции природного газа, составила около 11% от среднего с периодами в 20 и 60 минут. Среднее содержание изучаемого белка в селезенке половозрелых крыс составляет 11,0 условных единиц.

На кинетической кривой (рис. 67) зарегистрировано 4 достоверных пика ритмической активности альбумина в условиях токсического стресса на 20-й, 60-й, 100-й и 140-й минуте наблюдения. К 20-й минуте наблюдения происходит увеличение количества альбумина до 9,8 условных единиц. Второй подъем регистрируется на 60-й минуте, когда его уровень достигает



максимума, увеличиваясь до 12,8 сравнимых единиц. Третий пик ритмической активности происходит на 100-й минуте, при этом показатель возрастает до 9,3 условных единиц. Затем количество альбумина снижается к 120-й минуте до минимального значения – 6,3 условных единиц. Следующий подъем содержания изучаемого белка в ткани на кинетической кривой регистрируется на 140-й минуте наблюдения, когда показатель увеличивается до 12,6 условных единиц. Затем на протяжении 40 минут отмечается снижение его уровня до 9,4 условных единиц. Амплитуда колебаний альбумина при этом составила 16,4% от среднего с периодичностью в 40 минут.



**Рис. 67** Динамика содержания альбумина в ткани селезенки половозрелых крыс, подвергшихся воздействию ССГ

Таким образом, в ткани селезенки половозрелых животных в условиях токсического стресса динамика содержания общего белка и альбумина сохраняет околичасовую периодичность.

Тем не менее, в условиях гипоксии наблюдается выраженное угнетение ритмической активности изучаемых белков. Так, по сравнению с контролем снижение содержания общего белка происходит на 11,6% и альбумина на 21,4% от среднего (табл. 14). Токсическое воздействие природного газа вызывает снижение амплитуды колебаний общего белка на 20% и альбумина на 19,6%, что тем самым модифицирует ритмическую кривую (табл. 14).

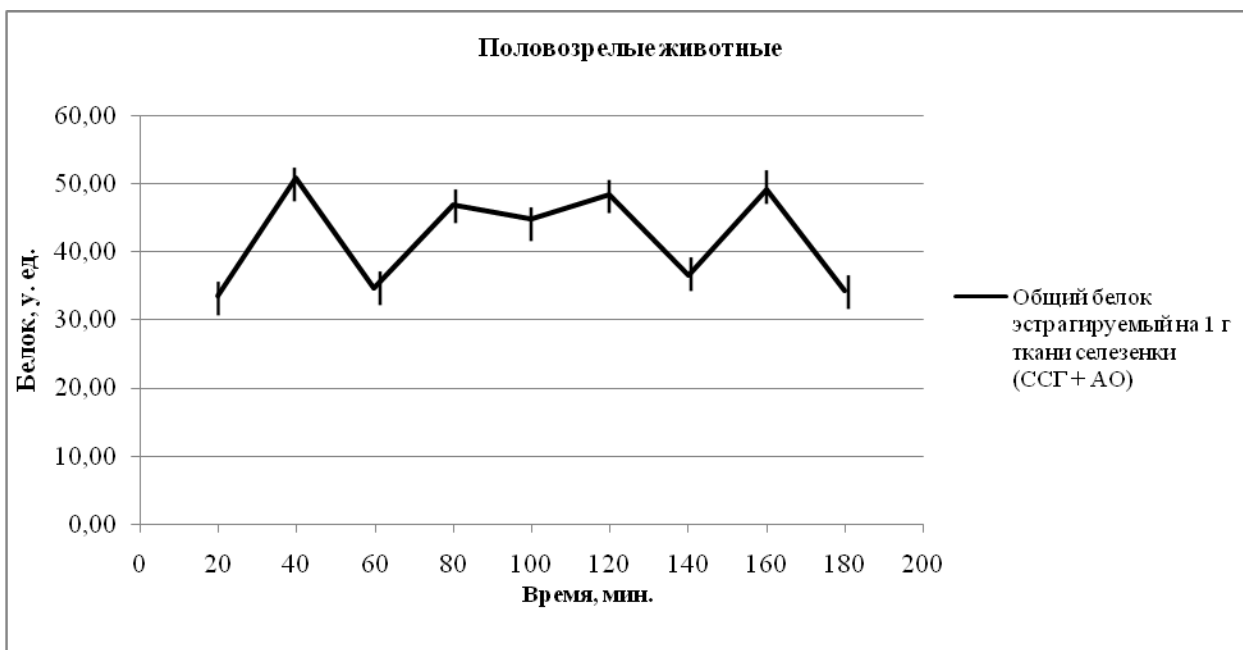
Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани селезенки половозрелых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Селезенка	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	43,0±3,1	31%	20-40 мин
	ССГ	38,0±1,5*	11%	20-60 мин
	ССГ+АО	42,0±2,5 <sup>◇</sup> #	21%	40 мин
Альбумин	К	14,0±0,9	36%	20-40 мин
	ССГ	11,0±1,2*	16,4%	40 мин
	ССГ+АО	15,0±1,6 <sup>◇</sup> #	29,3%	20-40 мин

*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>◇</sup> p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Как показал анализ ритмической кривой (рис. 68) в условиях хронической ингаляции природного газа на фоне комплексного ведения тималина и альфа-токоферола ацетата, среднее содержание общего белка составляет 42,0 условные единицы.

За время наблюдения отмечается четыре пика ритмической активности на 40-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах. На 40-й минуте происходит увеличение количества общего белка до 50,8 условных единиц, достигая максимума на кинетической кривой. Второй подъем регистрируется к 80-й минуте наблюдения, когда содержание общего белка увеличивается до 46,9 сравнимых единиц. Затем на протяжении 20 минут происходит снижение показателя до 44,8 условных единиц. К 120-й минуте показатель вновь увеличивается до 48,3 сравнимых единиц. Четвертый пик активности регистрируется на 160-й минуте наблюдения, когда показатель возрастает до 49,2 условных единиц. Амплитуда колебаний общего белка в ткани селезенки составила 21% от среднего с периодом в 40 минут.

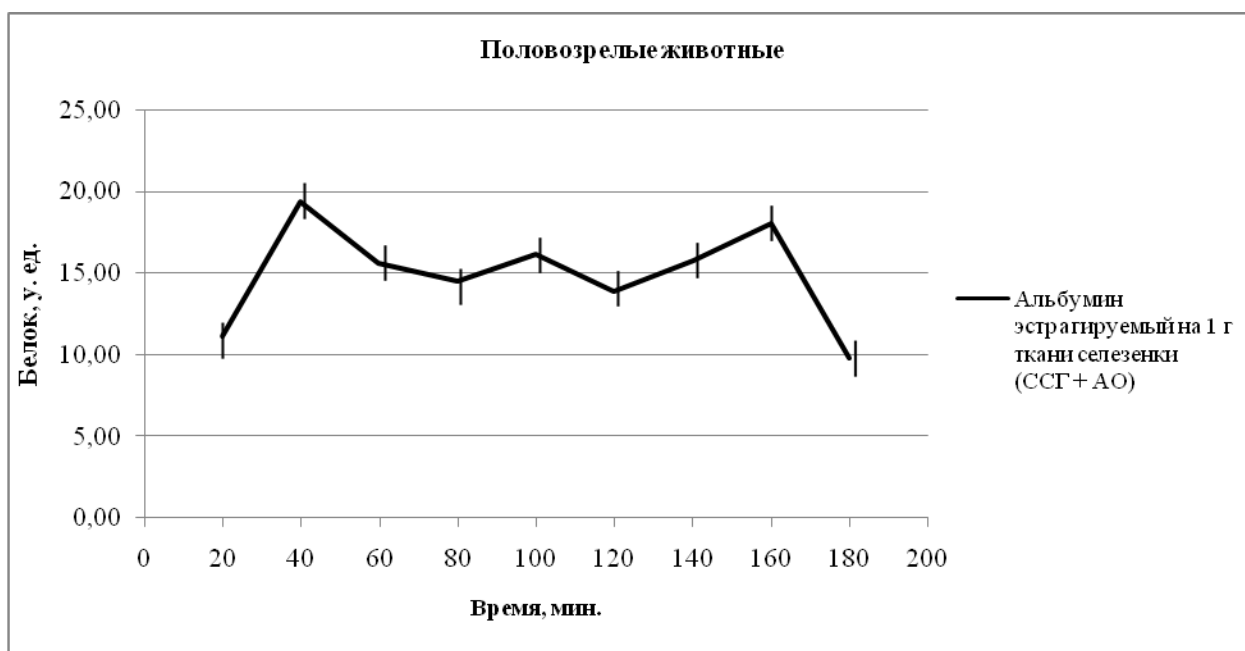


**Рис. 68 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки половозрелых крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

На хронограмме (рис. 69) выявлен окологосовой ритм содержания альбумина в селезенке половозрелых животных с амплитудой 29,3% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут.

На протяжении 40 минут наблюдения регистрируется увеличение уровня альбумина, в результате чего показатель возрастает до максимального значения 19,4 условных единиц. Затем количество изучаемого белка в ткани постепенно снижается и к 80-й минуте составляет 14,5 условных единиц. Следующий подъем регистрируется на 100-й минуте наблюдения, когда показатель повышается до 16,2 сравнимых единиц. На протяжении дальнейших 20 минут наблюдения происходит снижение содержания альбумина до 13,9 условных единиц. Затем количество этого белка в селезенке увеличивается еще дважды на 140-й минуте до 15,8 и на 180-ой минуте до 18,1 сравнимых единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума содержания альбумина в ткани на 40-й, 100-й, 140-й и 160-й минутах (рис. 69). Средний уровень альбумина в селезенке половозрелых животных, подвергшихся

воздействию природного газа на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата составил 15,0 условных единиц.



**Рис. 69** Динамика содержания альбумина в ткани селезенки половозрелых крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов

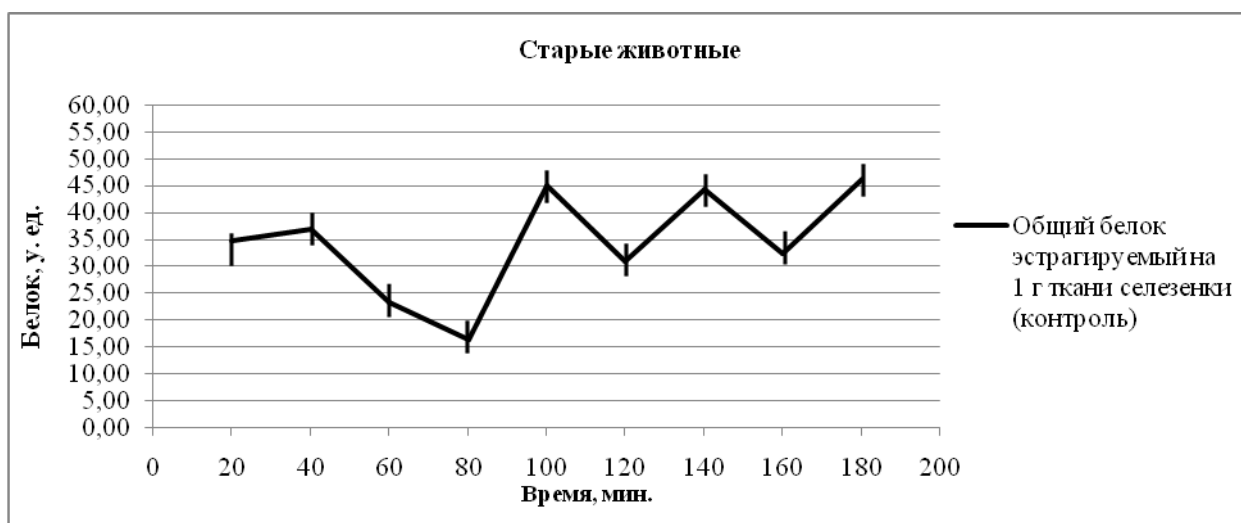
Таким образом, у половозрелых крыс в условиях гипоксии на фоне введения антиоксидантов происходит модификация окологоризонтальных ритмических процессов, которая затрагивает изменение среднего содержания изученных белков и амплитуды их колебаний в ткани селезенки. Формирующаяся ответная реакция ткани характеризуется увеличением общего белка на 10,5% и альбумина на 36% (табл.14). Применяемый в эксперименте комплекс антиоксидантов (тималин и витамин Е) способствовал повышению адаптации организма экспериментальных животных, что проявилось увеличением амплитуды колебаний, повышением активности ферментных систем для синтеза общего белка и альбумина.

#### 4.3.3 Старые животные

На кинетической кривой (рис. 70) зарегистрированы ритмические колебания содержания общего белка в селезенке старых интактных крыс. Как

показал анализ хронограммы, среднее содержание белка составляет 34,4 условных единиц. На 40-й минуте наблюдения регистрируется увеличение показателя до 37,0 условных единиц. На протяжении последующих 40 минут наблюдения происходит снижение уровня общего белка до минимума - 16,1 условных единиц. К 100-й минуте регистрируется второй подъем до 44,9 условных единиц, достигающий максимального значения. Затем на ритмической кривой происходит снижение количества общего белка до 30,9 условных единиц. На 140-й и 180-й минуте наблюдения показатель повышается еще дважды - до 44,2 и 46,2 условных единиц соответственно.

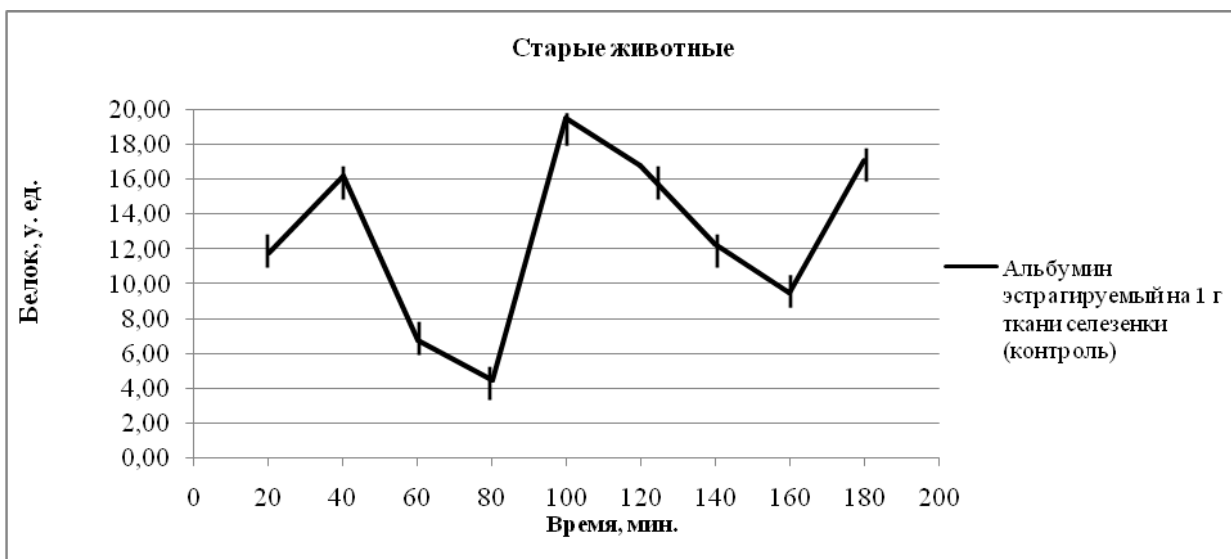
Таким образом, у старых интактных животных зарегистрировано четыре пика ритмической активности общего белка в селезенке на 40-й, 100-й, 140-й и 180-й минутах наблюдения.



**Рис. 70 Динамика содержания общего белка в ткани селезенки старых интактных крыс**

Амплитуда колебаний содержания общего белка в ткани составила около 30,5% от среднего с периодичностью в 40 и 60 минут.

На хронограмме (рис. 71) выявлен окологосударственный ритм уровня альбумина в селезенке старых интактных животных с амплитудой около 53,5% от среднего с периодами колебаний в 20 и 40 минут. Нами зарегистрировано три достоверно высоких пика содержания альбумина.



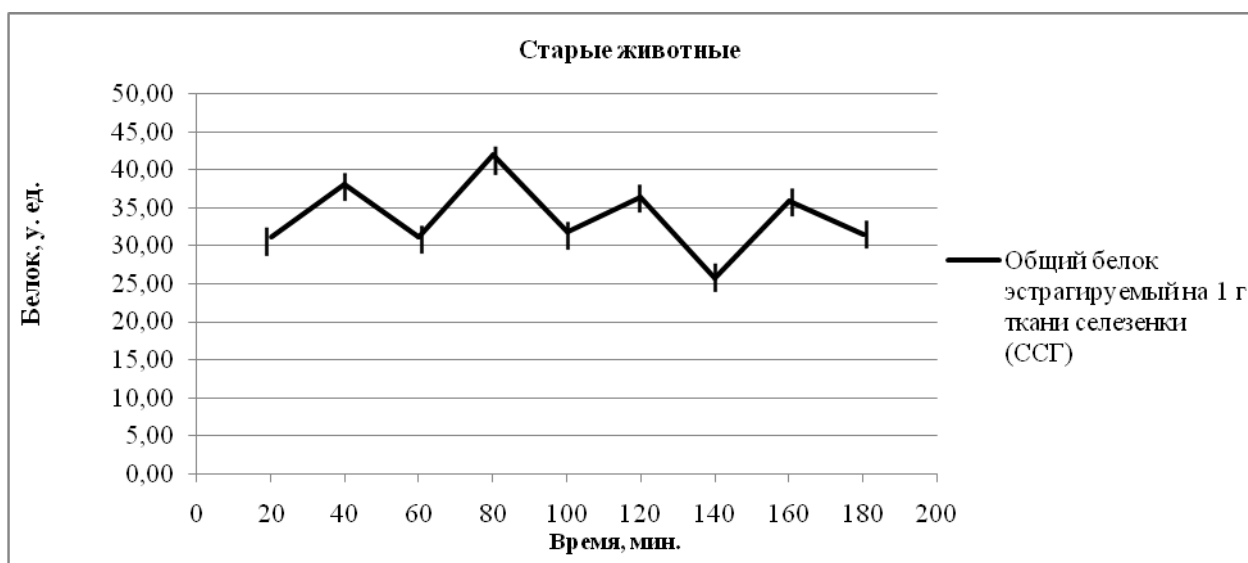
**Рис. 71** Динамика содержания альбумина в ткани селезенки старых интактных крыс

На 40-й минуте наблюдения происходит увеличение количества альбумина до 16,2 условных единиц. На 60-й минуте наблюдается снижение показателя до 6,7 условных единиц, а к 80-й минуте регистрируется на кинетической кривой минимальное его значение – 4,49 сравнимых единиц. Затем к 100-й минуте вновь происходит повышение уровня содержания альбумина, и показатель достигает максимума - 19,5 условных единиц, Затем на ритмической кривой к 160-й минуте наблюдения регистрируется снижение количества этого белка до 9,5 условных единиц. На 180-й минуте содержание альбумина вновь увеличивается до 17,1 сравнимых единиц.

Средний показатель альбумина в ткани селезенки старых интактных животных составляет 12,7 условных единиц.

В условиях стресса средний уровень общего белка в селезенке старых крыс составил 33,0 условные единицы. На протяжении 40 минут наблюдения регистрируется увеличение содержания общего белка в ткани до 38,1 сравнимых единиц. Затем его количество снижается до 31,1 условных единиц. Второй подъем регистрируется к 80-й минуте наблюдения, когда уровень общего белка повышается, достигая максимального значения до 42,1

сравнимых единиц. На 100-й минуте показатель снижается до 31,8 условных единиц.



**Рис. 72 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки старых крыс, подвергшихся воздействию ССГ**

На 120-й и 160-й минуте наблюдения количество изучаемого белка увеличивается еще дважды - до 36,4 условных единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано четыре достоверных максимума ритмической активности общего белка в ткани на 40-й, 80-й, 120-й и 160-й минутах (рис. 72), при этом амплитуда колебаний его составила около 27,5% от среднего с периодом в 40 минут.

На кинетической кривой (рис. 73) выявлен окологасовой ритм содержания альбумина в селезенке старых животных, подвергшихся хроническому стрессу.

Среднее содержание альбумина снижается по сравнению с контролем на 32% и составило 8,6 условных единиц. Через 20 минут наблюдения показатель возрастает до 11,3 условных единиц. Затем на протяжении 20 минут количество альбумина снижается до 10,5 сравнимых единиц. К 80-й минуте содержание изучаемого белка в ткани достигает своего максимума и составляет 13,1 условных единиц. В дальнейшем уровень альбумина снижается к 100-й минуте до 7,2 сравнимых единиц. На ритмической кривой

содержание изучаемого белка увеличивается еще дважды к 120-й и 160-й минуте наблюдения - до 8,3 и 7,5 условных единиц соответственно.



**Рис. 73** Динамика содержания альбумина в ткани селезенки старых крыс, подвергшихся воздействию ССГ

Амплитуда колебаний содержания альбумина в селезенке старых животных, подвергшихся хронической ингаляции природного газа, составила около 52% от среднего с периодом в 40 минут.

Таким образом, в ткани селезенки старых крыс в условиях стресса кинетическая кривая продолжает сохранять окологасовую периодичность.

**Таблица 15**

Уровень содержания общего белка и альбумина в ткани селезенки старых крыс в норме, подвергшихся хроническому стрессу и введению комплекса антиоксидантов

Селезенка	Группы (n=60)	Мезор (у.ед.)	Амплитуда (%)	Р (период, мин.)
Общий белок	К	34,4±0,2	30,5%	40-60 мин
	ССГ	33,0±0,7*	27,5%	40 мин
	ССГ+АО	43,0±5,0 <sup>0#</sup>	32%	40 мин
Альбумин	К	12,7±0,6	53,5%	20-40 мин
	ССГ	8,6±2,0*	52%	40 мин
	ССГ+АО	14,0±1,9 <sup>0#</sup>	56%	40 мин

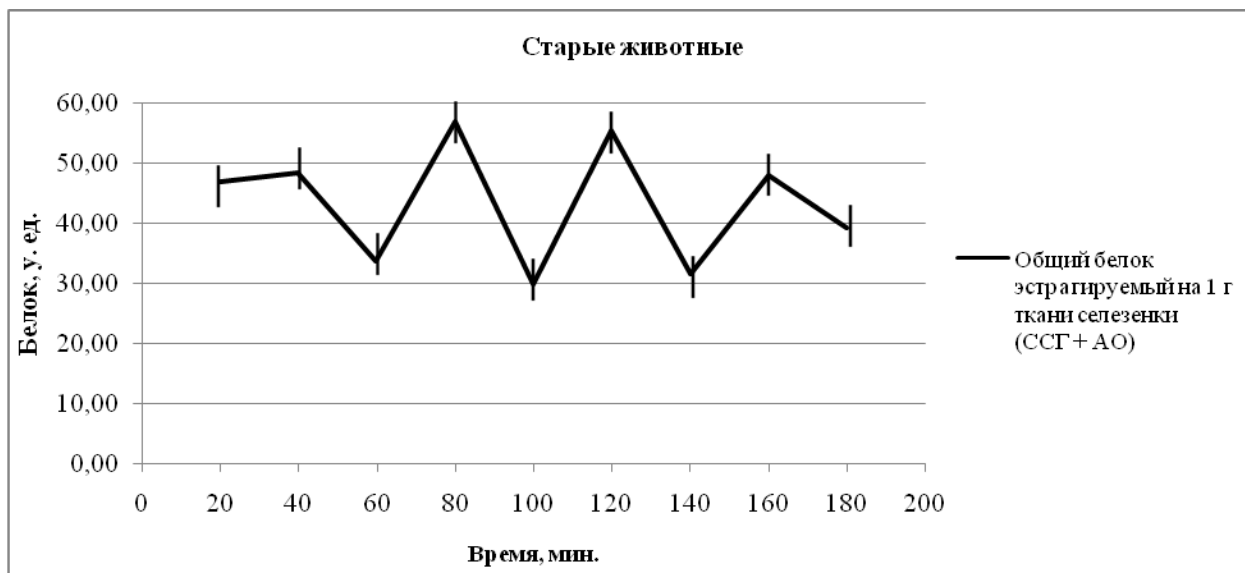
*Примечание:* \* p<0,05 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05 в сравнении подгруппы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



Токсическое воздействие приводит к снижению амплитуды колебаний, как общего белка, так и альбумина на 3% и 1,5% соответственно, что тем самым изменяет ритмическую кривую (табл. 15).

В результате эксперимента, зарегистрировано снижение содержания общего белка на 4% и альбумина на 32% от среднего в сравнении с контрольными значениями (табл. 15).

Как показал анализ ритмической кривой (рис. 74) в условиях хронической ингаляции сероводородсодержащего природного газа на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата средний уровень общего белка в селезенке составил 43,0 условных единиц.

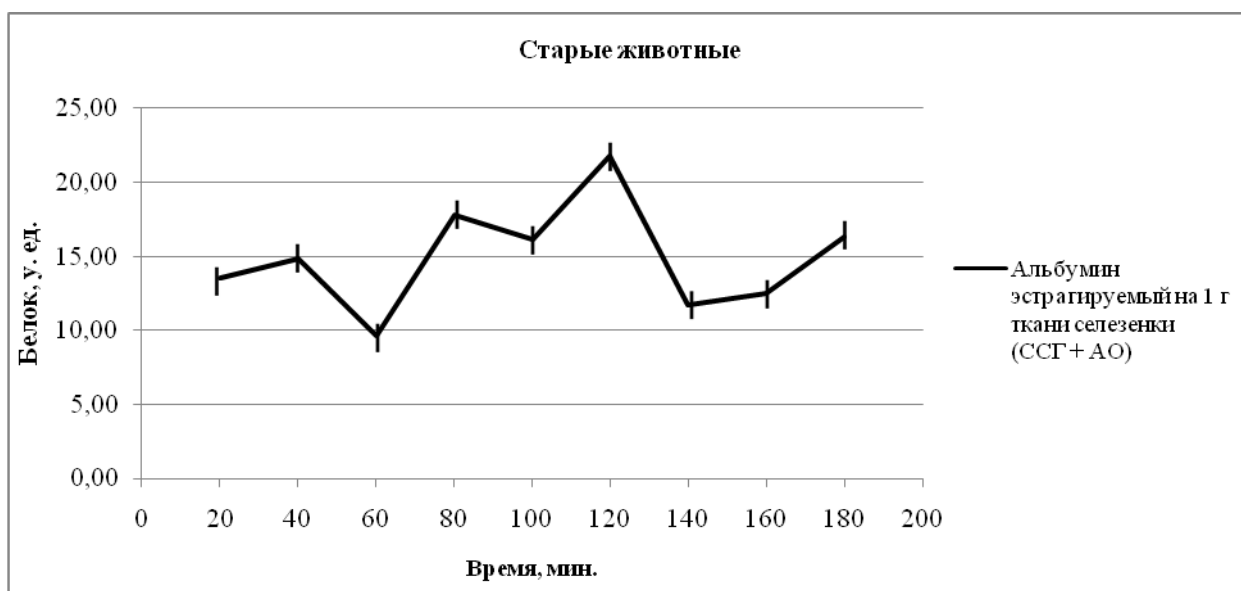


**Рис. 74 Ритмические колебания содержания общего белка в ткани селезенки старых крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

За время наблюдения отмечается четыре достоверных пика ритмической активности общего белка на 40-й, 80-й, 120-й, 160-й минутах наблюдения.

На хронограмме за 40 минут эксперимента содержание общего белка в ткани увеличивается, достигая 48,2 условных единиц. Затем регистрируется снижение его количества до 33,6 сравнимых единиц. К 80-й минуте наблюдения происходит повышение показателя до его максимума – 56,8 условных единиц. К 100-й минуте наблюдения уровень белка снижается до

минимума 29,8 условных единиц. Третий высокий пик показателя содержания общего белка регистрируется на 120-й минуте до 55,4 условных единиц. Следующий подъем ритмической активности происходит к 160-й минуте наблюдения, когда количество его возрастает до 47,8 условных единиц. Амплитуда колебаний общего белка в ткани составила 32% от среднего с периодичностью в 40 минут.



**Рис. 75 Динамика содержания альбумина в ткани селезенки старых крыс, подвергшихся воздействию ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов**

На хронограмме (рис. 75) выявлен окологоризонтальный ритм содержания альбумина в селезенке старых животных с амплитудой 56% от среднего и периодом колебаний в 40 минут.

На 40-й минуте наблюдения показатель возрастает до 14,8 условных единиц. Затем на протяжении 20 минут наблюдения регистрируется снижение альбумина, в результате чего его количество уменьшается до минимума - 9,6 сравнимых единиц. Затем показатель постепенно повышается к 80-й минуте до 17,8 условных единиц. Следующий подъем ритмической активности в ткани регистрируется к 120-й минуте наблюдения, когда количество изучаемого белка увеличивается до 21,8 сравнимых единиц, достигая при этом максимального значения. На протяжении дальнейших 20

минут наблюдения показатель вновь снижается до 11,7 условных единиц. Затем уровень альбумина повышается еще дважды на 160-ой минуте до 12,5 и на 180-й минуте до 16,3 сравнимых единиц. Таким образом, в течение 180 минут наблюдения зарегистрировано пять достоверных максимума содержания этого белка на 40-й, 80-й, 120-й, 160-й и 180-й минутах (рис. 75). В ткани селезенки старых животных, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата, среднее содержание альбумина составило 14,0 условных единиц.

На основании выше изложенного, можно сделать вывод, что у старых крыс введение антиоксидантов при токсическом воздействии природным газом стабилизирует компенсаторные возможности ткани селезенки. Свидетельством этого является увеличение среднего содержания общего белка на 30% и альбумина на 63% в сравнении с подгруппой животных ССГ (табл. 15). На кинетической кривой регистрируется так же повышение амплитуды колебаний общего белка на 4,5% и альбумина на 4%.

Сравнивая возрастные особенности модификации ритмических кривых, можно сделать вывод, что в контроле у половозрелых крыс среднее содержание общего белка в ткани селезенки выше в 2 раза (на 105%), чем у молодых, и в 1,3 раза (на 25%) выше, чем у старых животных (табл. 15). Уровень содержания альбумина в контроле так же выше у половозрелых крыс в 1,6 раза (на 59%), чем у молодых, и 1,1 раза (на 10%) больше, чем у старых животных. Но, при этом амплитуда колебаний белков в ткани селезенки у половозрелых крыс ниже, чем у молодых и старых животных (табл. 15), что вероятно связано с более «экономным» режимом работы спленоцитов и высокой степенью их синхронизации.

В условиях гипоксии токсическое воздействие природного газа приводит к снижению амплитуды колебаний, как общего белка, так и альбумина во всех возрастных группах, но при этом кинетическая кривая продолжает сохранять окологосовую периодичность. Данные изменения, зарегистрированные в эксперименте, носят обратимый характер, так как

введение тималина и альфа-токоферола ацетата модифицирует кинетическую кривую, повышая во всех возрастных группах амплитуду колебаний, а так же среднее содержание общего белка и альбумина в тканях.

Таким образом, проведенное экспериментальное исследование дает основание для вывода, что многократно повторяющиеся, длительно действующие формы токсического стресса могут воздействовать на иммунную систему и приводить к нарушению ее основной функции – иммунологического надзора.

Хроническое воздействие сероводородсодержащего газа на ткани тимуса, лимфатических узлов и селезенки вызывают выраженные деструктивные изменения в ядрах лимфоцитов, подавляя процессы синтеза и транспорта клеточных белков. Ингибируя электронный транспорт в митохондриях, путем формирования прочной связи с железом в молекулах цитохромоксидаз, сероводород вызывает тканевую гипоксию. Следствием этого является резкое угнетение и нарушение метаболических процессов протекающих как на клеточном, так и тканевом уровнях.

Нарушая проницаемость контактирующих участков наружных клеточных мембран для трансмембранного переноса различных веществ, серосодержащие соединения приводят к нарушению синхронизации иммунокомпетентных клеток тканей органов иммунной системы, что и отражается на модификациях ритмогенеза именно альбумина, являющегося основным транспортным белком.

Одним из наиболее ранних проявлений формирования стресс–реакции в лимфоидных тканях является снижение относительного коэффициента массы тимуса, селезенки и лимфатических узлов на фоне хронического стресса.

**В группе молодых животных (табл. 16) установлено:**

- При хроническом воздействии природного газа АГКМ, содержащего сероводород в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$  происходит достоверное уменьшение относительного коэффициента массы тимуса по отношению к контролю на

29%. На фоне введения антиоксидантов относительный коэффициент массы вилочковой железы по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 58,8%.

- В условиях гипоксии зарегистрировано достоверное снижение относительного коэффициента массы паховых лимфатических узлов по отношению к контролю на 55,6%. На фоне введения антиоксидантов относительный коэффициент массы лимфоузлов по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 75%.

- При токсическом воздействии природного газа происходит достоверное снижение относительного коэффициента массы селезенки по отношению к контролю на 61%. На фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата относительный коэффициент массы селезенки по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 113%.

**Таблица 16**

Группа (n=10)	Относительный коэффициент массы органа, М±m, мг/100г веса животного		
Орган	Тимус	Паховые лимфатические узлы	Селезенка
Молодые (неполовозрелые) животные			
К	0,24±0,017	0,09±0,017	0,59±0,046
ССГ	0,17±0,016**	0,04±0,021*	0,23±0,022***
ССГ+АО	0,27±0,015 <sup>000##</sup>	0,07±0,019 <sup>0#</sup>	0,49±0,020 <sup>000#</sup>

*Примечание: \*p<0,05, \*\*p<0,01 и \*\*\*p<0,001 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05, <sup>00</sup>p<0,01 и <sup>000</sup>p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05, ##p<0,01 и ###p<0,001 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>0</sup># - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

**В группе половозрелых животных (табл. 17) установлено:**

- При хроническом воздействии природного газа происходит достоверное снижение относительного коэффициента массы тимуса по отношению к контролю на 29,62%. На фоне введения антиоксидантов относительный коэффициент массы вилочковой железы по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 10,53%.

- В условиях стресса зарегистрировано достоверное снижение относительного коэффициента массы паховых лимфатических узлов по отношению к контролю на 57%. На фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата относительный коэффициент массы лимфоузлов по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 33%.

- При токсическом воздействии природного газа АГКМ происходит достоверное снижение относительного коэффициента массы селезенки по отношению к контролю на 16%. На фоне введения антиоксидантов относительный коэффициент массы селезенки по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 5,5%.

**Таблица 17**

Группа (n=10)	Относительный коэффициент массы органа, М±m, мг/100г веса животного		
Орган	Тимус	Паховые лимфатические узлы	Селезенка
	Половозрелые животные		
К	0,27±0,052	0,07±0,011	0,87±0,050
ССГ	0,19±0,010*	0,03±0,005***	0,73±0,064*
ССГ+АО	0,21±0,045 <sup>o#</sup>	0,04±0,004 <sup>o###</sup>	0,77±0,066 <sup>o#</sup>

*Примечание: \*p<0,05, \*\*p<0,01 и \*\*\*p<0,001 в сравнении с контролем; <sup>o</sup>p<0,05, <sup>oo</sup>p<0,01 и <sup>ooo</sup>p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05, ##p<0,01 и ###p<0,001 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \* <sup>o</sup> # - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

**В группе старых животных (табл. 18) установлено:**

- При воздействии природного газа АГКМ, содержащего сероводород в концентрации 90 мг/м<sup>3</sup> происходит достоверное уменьшение относительного коэффициента массы тимуса по отношению к контролю на 45,8%. На фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата относительный коэффициент массы вилочковой железы по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 23%.

- В условиях хронической гипоксии зарегистрировано достоверное снижение относительного коэффициента массы паховых лимфатических узлов по отношению к контролю на 81%. На фоне введения антиоксидантов

относительный коэффициент массы лимфоузлов по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 67%.

- При токсическом стрессе, вызванным воздействием природного газа происходит достоверное уменьшение относительного коэффициента массы селезенки по отношению к контролю на 32%. На фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата относительный коэффициент массы селезенки по отношению к подгруппе ССГ, увеличивается на 14%.

**Таблица 18**

Группа (n=10)	Относительный коэффициент массы органа, М±m, мг/100г веса животного		
	Тимус	Паховые лимфатические узлы	Селезенка
	Старые животные		
К	0,24±0,023	0,16±0,020	0,96±0,046
ССГ	0,13±0,014***	0,03±0,006***	0,65±0,072**
ССГ+АО	0,16±0,016 <sup>°##</sup>	0,05±0,007 <sup>°###</sup>	0,74±0,036 <sup>°°°###</sup>

*Примечание: \*p<0,05, \*\*p<0,01 и \*\*\*p<0,001 в сравнении с контролем; <sup>°</sup>p<0,05, <sup>°°</sup>p<0,01 и <sup>°°°</sup>p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05, ##p<0,01 и ###p<0,001 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \* <sup>°</sup> # - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

В свою очередь, рассматривая зарегистрированные нами морфофункциональные изменения, вызванные токсическим воздействием, в онтогенетическом аспекте следует отметить, что серосодержащие соединения приводят к резко выраженному десинхронозу, что проявляется в модификации окологасовых ритмов общего белка и альбумина в органах иммунной системы. Примененный комплекс препаратов обладает адаптогенным действием. Повышая активность ферментных систем, тималин и альфа-токоферол ацетат позволяют на новом функциональном уровне поддерживать физиологические процессы, повышая устойчивость тканей органов иммунной системы и плазмы крови крыс к экзогенным повреждающим воздействиям.

## **Глава 5. Возрастная динамика свободно-радикальных процессов в плазме крови крыс**

Центральное место при метаболических превращениях в организме занимают окислительно-восстановительные реакции, которые участвуют не только в образовании энергии, необходимой для жизнедеятельности организма, синтезе структурных элементов тканей (Ohkawa H., Ohishi N., Yagi K., 1979; Стефани Д.В., Зернов И.И., 1984), но и в процессах, приводящих к гибели клеток (Wyllie A. H., 1987; Yan L. J., Levine R. L., Sohal R. S., 1997; Girotti A. W., 1998, Потапнев М.П., 2002). Активация перекисного окисления липидов приводит к искажению информации от внеклеточных регуляторов к внутриклеточным эффекторным системам, нарушениям адаптационных способностей клеток микроциркуляторного русла (Владимиров Ю.А., 1987; Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И. с соавт., 2000).

Окислительно-восстановительные процессы увеличивают количество активных форм кислорода и радикальных соединений, обладающие высокой реакционной способностью. Они активно включаются в процессы жизнедеятельности клеток на любой стадии развития – от созревания до гибели (Дубинина Е.Е., 2006; Дубинина Е.Е., Пустыгина А.В., 2007). Возникший дисбаланс между про- и антиоксидантными системами приводит к накоплению продуктов окисления основных классов макромолекул, включая липиды, белки и нуклеиновые кислоты, в результате чего в клетке может развиваться патологический (деструктивный) процесс, получивший в литературе название окислительного стресса (Левицкий Е.Л., Губский Ю.И., 1994; Барабой В.А., Брехман И.И., Голожин В.Г. с соавт., 2004; Дубинина Е.Е., 2006; Меньшикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. с соавт., 2006; Jones D.P., 2008).

Окислительная модификация белков — один из ранних индикаторов повреждения тканей при активации свободно-радикальных процессов (Caraceni P. et al., 1997; Halliwell B. et al., 1999). Имеются исследования,



подтверждающие, что при ряде патологических состояний именно белки, а не липиды или нуклеиновые кислоты, являются эффективными ловушками генерируемых активных форм кислорода, и их окислительная модификация рассматривается как более надежный маркер окислительного стресса (Барабой В.А., Брехман И.И., Голожин В.Г., 2004). Продукты окисления белков при окислительных повреждениях в тканях более стабильны по сравнению с продуктами перекисного окисления липидов (Forster M.J. et al., 1996; Friguet V. et al., 2000). Образующиеся метаболиты являются эндогенными токсическими веществами, негативно влияющими на различные структуры организма, в том числе и на иммунную систему. Кроме того, кровь как саморегенерирующаяся система, является межорганным связующим звеном, в связи, с чем по состоянию ее антиоксидантно – прооксидантной системы можно судить о функциональном статусе всего организма.

### 5.1. Молодые (неполовозрелые) животные

В таблице 19 представлены результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в плазме крови молодых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ.

**Таблица 19**

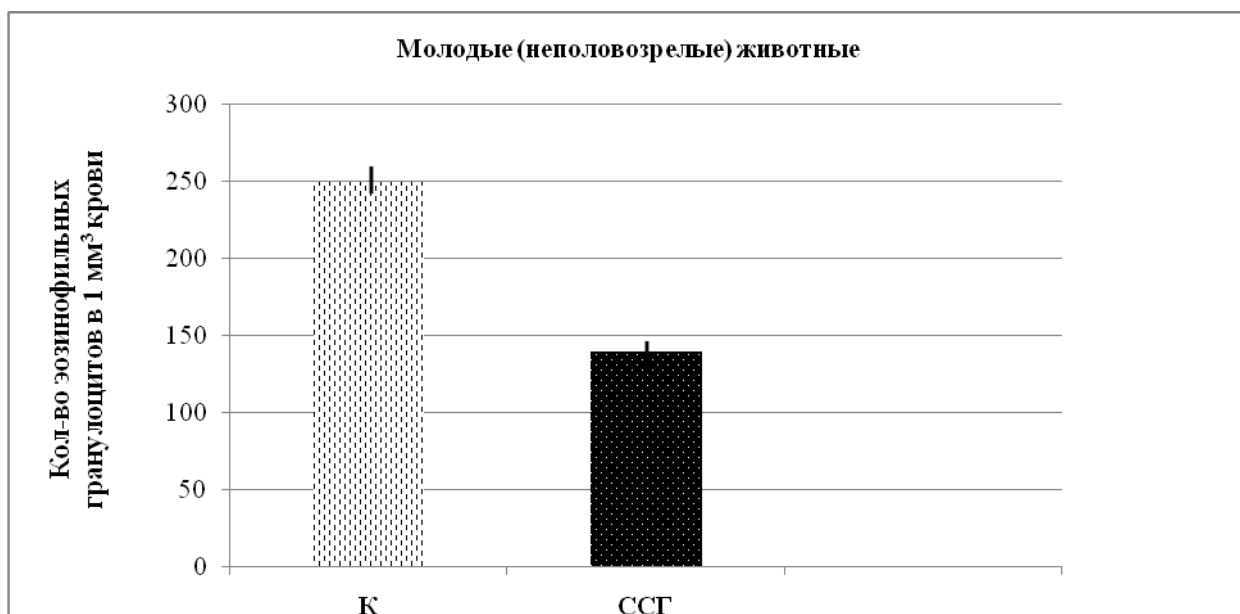
Уровень свободно-радикальных процессов в плазме крови молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу (M±m)

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,2 мл плазмы крови	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	1,86 ± 0,02	19,15 ± 0,20	82,58 ± 0,522	1,14±0,058
ССГ	4,38 ± 0,563**	34,89 ± 0,664***	117,12 ± 0,653***	1,73 ± 0,098***

Примечание: \*p<0,05, \*\*p<0,01 и \*\*\*p<0,001 в сравнении с контролем; \* - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Хроническая ингаляция сероводородсодержащим природным газом АГКМ, в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$  привела к выраженному увеличению уровня свободно-радикальных процессов у животных этой возрастной группы.

Для оценки стресс - реакции на фоне воздействия ССГ использовалась эозинопеническая проба, результаты которой представлены на рис. 76, свидетельствующие о наличии высокой стрессорной реакции у молодых животных ( $P < 0,001$ ).

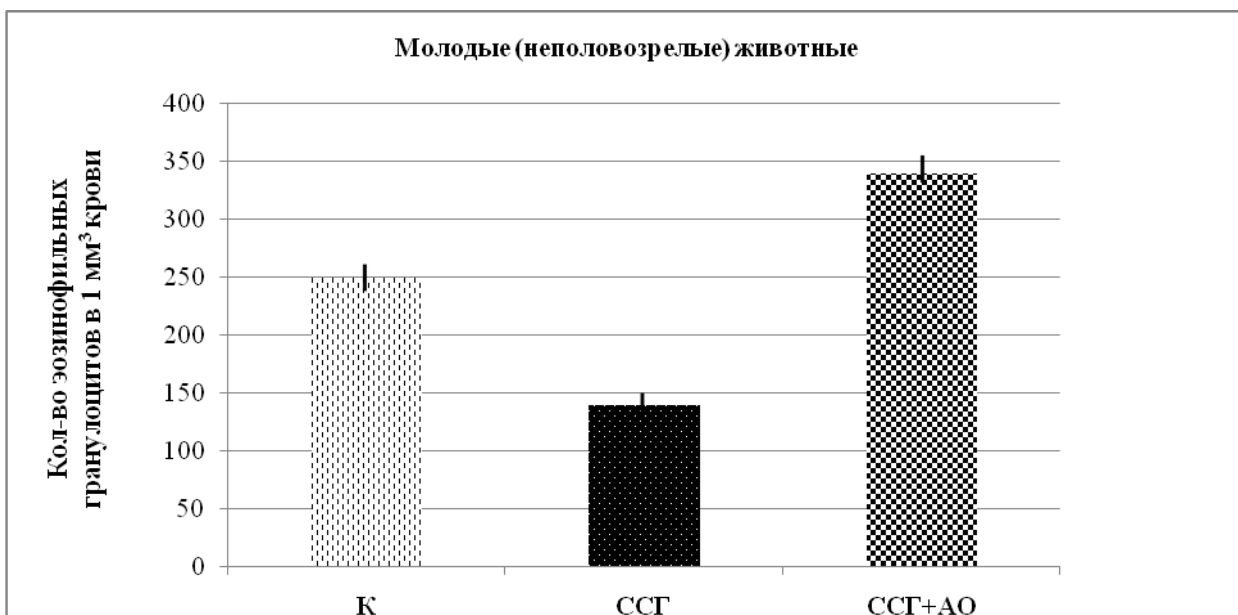


**Рис. 76** Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в  $1 \text{ мм}^3$  крови молодых крыс на фоне воздействия ССГ

В условиях стресса в плазме крови молодых животных зарегистрировано повышение окислительной деструкции белков и увеличение всех показателей ПОЛ (табл. 19). Так, в сравнении с контрольными значениями установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой при хроническом воздействии серосодержащего газа увеличивается: исходное ПОЛ на 135,5% ( $P < 0,01$ ), спонтанное ПОЛ на 82% ( $P < 0,001$ ) и аскорбатзависимое ПОЛ на 42% ( $P < 0,001$ ). Зафиксировано возрастание окислительной модификации белков на 52% ( $P < 0,001$ ).

Полученные данные об интенсивной генерации свободно-радикальных продуктов в условиях токсического стресса являются доказательством повреждающего действия сероводородсодержащего природного газа. Повышение исходного ПОЛ в 2,4 раза и ОМБ в 1,5 раза может явиться причиной изменения структуры клеточных мембран, а так же способствует снижению синтеза белков - переносчиков электронов в дыхательной цепи, изменению активности АТФ-азы и избирательности действия транспортных пор биомембран (Morin B. et al., 1998; Сеницкая Н.С. и др., 2002).

Результаты изучения стресс-реакции по показателю изменения количества эозинофилов при хроническом воздействии ССГ на фоне комплексного введения тималина и альфа-токоферола ацетата представлены на рис. 77.



**Рис. 77** Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови молодых крыс при воздействии ССГ на фоне введения комплекса антиоксидантов

В плазме крови молодых животных (подгруппа ССГ+АО) в ходе эксперимента зафиксировано повышение количества эозинофильных гранулоцитов как в сравнении с интактными животными, так и с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ). Это свидетельствует о достоверном уменьшении стрессорной

реакции и о корректирующем действии введенного комплекса антиоксиданта и иммуномодулятора. В условиях стресса в плазме крови рассматриваемой возрастной группы на фоне введения препаратов произошли значимые изменения интенсивности свободно-радикальных процессов (табл. 20).

**Таблица 20**

Уровень свободно-радикальных процессов в плазме крови молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов (M±m)

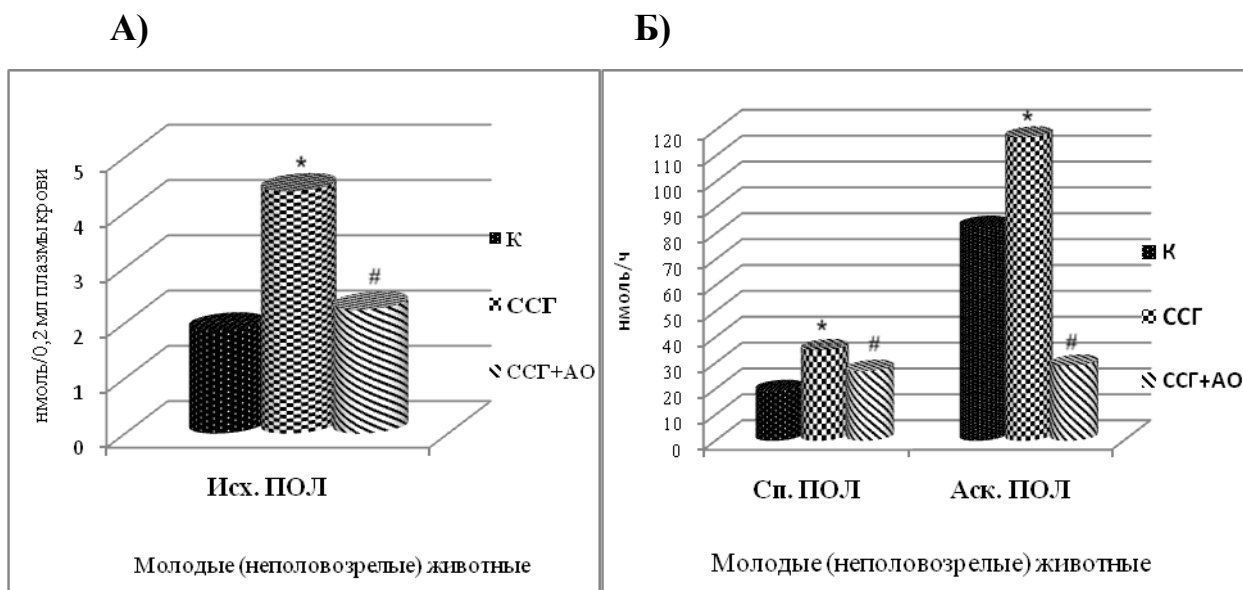
Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,2 мл плазмы крови	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	1,86 ± 0,02	19,15 ± 0,20	82,58 ± 0,522	1,14±0,058
ССГ	4,38 ± 0,563**	34,89 ± 0,664***	117,12 ± 0,653***	1,73 ± 0,098***
ССГ + АО	2,24 ± 0,371 <sup>0#</sup>	26,93 ± 0,491 <sup>000###</sup>	28,93 ± 0,462 <sup>000###</sup>	0,61±0,041 <sup>000###</sup>

*Примечание:* \* p<0,05, \*\* p<0,01 и \*\*\* p<0,001 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05, <sup>00</sup>p<0,01 и <sup>000</sup>p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # p<0,05, ## p<0,01 и ### p<0,001 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>0#</sup> - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

В сравнении с подгруппой, подвергшихся воздействию серосодержащего природного газа, зарегистрировано снижение показателя исходного ПОЛ на 49% (P<0,01), а так же снижение скорости спонтанного ПОЛ на 23% (P<0,001) и аскорбатзависимого ПОЛ на 75% (P<0,001). Уровень окислительной модификации белков ниже, чем в подгруппе ССГ на 65% (P<0,001), а в сравнении с контрольным значением - на 46,5% (P<0,001) (рис. 78 А, Б).

Таким образом, комплекс (тималин + витамина Е) проявил выраженное адаптогенное действие, повысив устойчивость плазмы крови молодых крыс к воздействию активных форм кислорода, образующихся при хронической ингаляции животных природным сероводородсодержащим

газом, оказав при этом значительный антиоксидантный и иммуномодулирующий эффект.



**Рис. 78 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в плазме крови молодых (неполовозрелых) крыс при различных функциональных состояниях организма**

Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

## 5.2. Половозрелые животные

Результаты исследования ТБК – реактивных продуктов в плазме крови половозрелых интактных животных и подвергшихся действию сероводородсодержащего природного газа представлены в таблице 21.

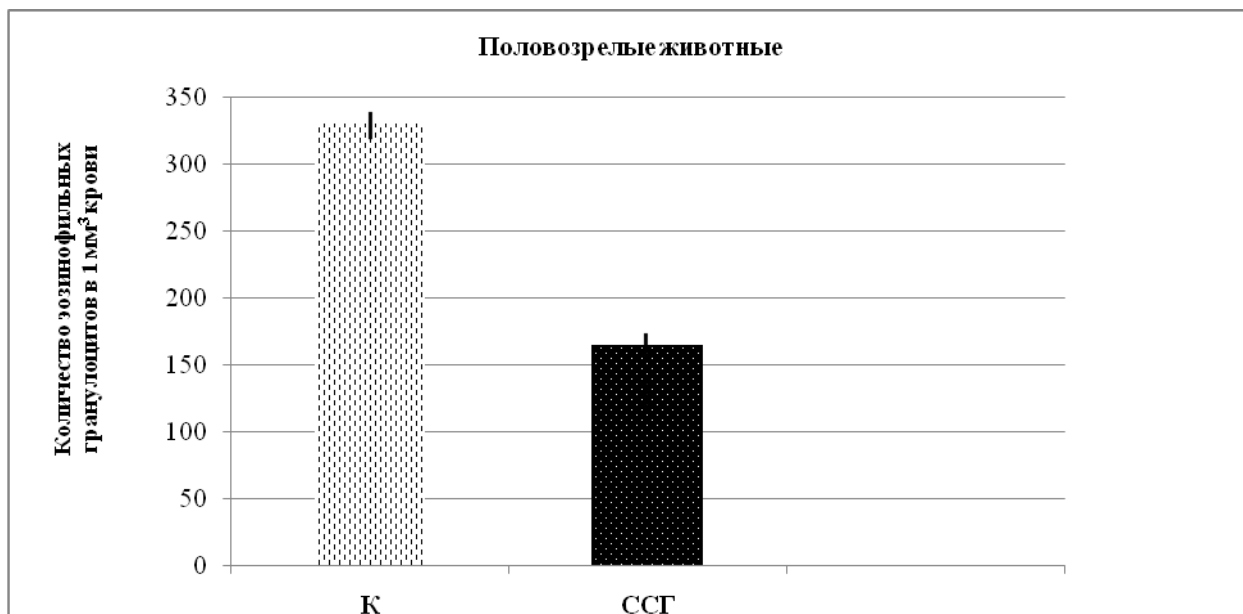
**Таблица 21**

Уровень свободно-радикальных процессов в плазме крови половозрелых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,2 мл плазмы крови	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	$1,13 \pm 0,023$	$13,78 \pm 0,677$	$52,12 \pm 0,755$	$1,22 \pm 0,409$
ССГ	$3,72 \pm 0,531^{***}$	$29,17 \pm 0,856^{***}$	$86,78 \pm 0,436^{***}$	$1,99 \pm 0,302^*$

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  и \*\*\*  $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Результаты оценки стресс - реакции на фоне хронической ингаляции сероводородсодержащим природным газом АГКМ, в концентрации 90 мг/м<sup>3</sup> на рис. 79 свидетельствуют о наличии стрессорной реакции у половозрелых животных (P<0,001).



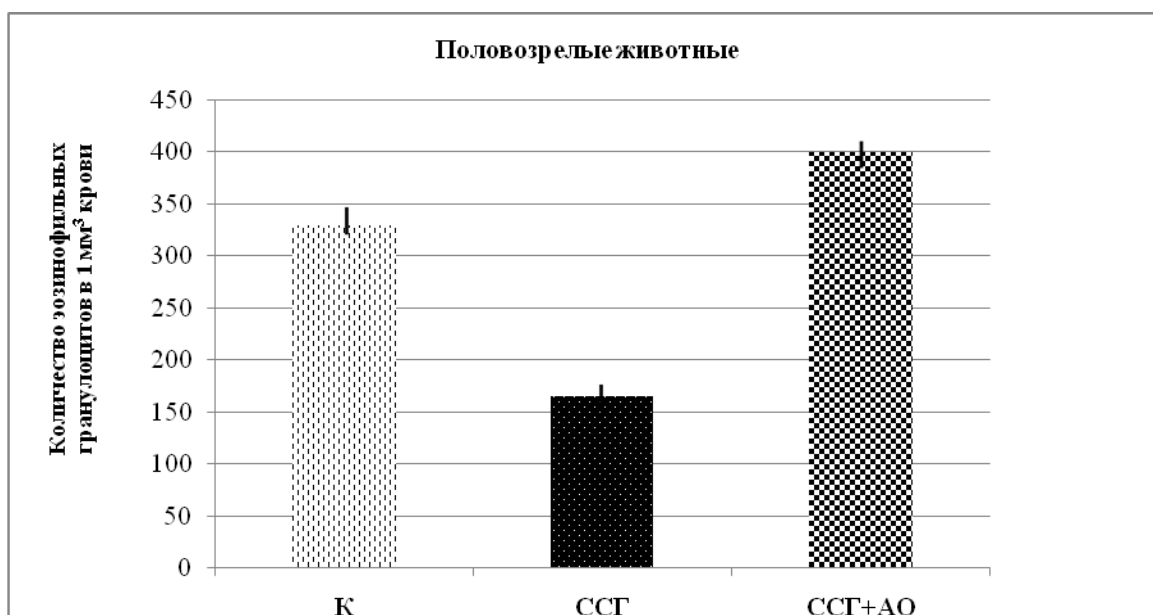
**Рис. 79** Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови половозрелых крыс на фоне воздействия ССГ

В условиях гипоксии (табл. 21) зарегистрированы выраженные изменения уровня свободно-радикальных процессов этой возрастной группы животных, характеризующиеся увеличением содержания исходного ПОЛ на 229% (P<0,01), а так же усилением скорости спонтанного ПОЛ на 112% (P<0,001) и аскорбатзависимого ПОЛ на 66,5% (P<0,001). Зафиксирован существенный рост окислительной модификации белков на 63% (P<0,001).

В плазме крови половозрелых животных (подгруппа ССГ+АО) в результате эксперимента зафиксировано повышение количества эозинофильных гранулоцитов, как в сравнении с подгруппой ССГ, так и в сравнении с интактными животными (P<0,001). Это свидетельствует об уменьшении стрессорной реакции и, соответственно, о корригирующем действии введенного комплекса препаратов (рис. 80).

В плазме крови рассматриваемой возрастной группы под воздействием сероводородсодержащего природного газа комбинация антиоксиданта и

иммуномодулятора способствовала изменению интенсивности свободно-радикальных процессов, о чем свидетельствуют данные таблицы 22.



**Рис. 80** Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови половозрелых крыс на фоне воздействия ССГ и введении комплекса антиоксидантов

Так, сочетанное введение препаратов вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 3,3%, статистически значимое замедление скорости спонтанного ПОЛ на 51% ( $P < 0,001$ ) и аскорбатзависимого ПОЛ на 69%, в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ).

**Таблица 22**

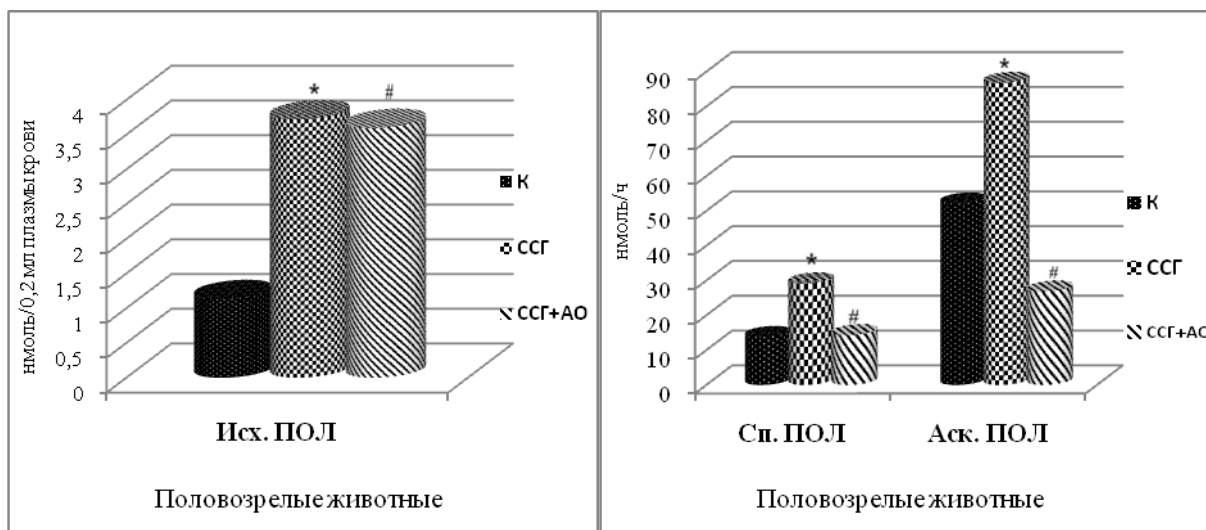
Уровень свободно-радикальных процессов в плазме крови половозрелых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,2 мл плазмы крови	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	1,13 ± 0,023	13,78 ± 0,677	52,12 ± 0,755	1,22 ± 0,409
ССГ	3,72 ± 0,531 <sup>**</sup>	29,17 ± 0,856 <sup>***</sup>	86,78 ± 0,436 <sup>***</sup>	1,99 ± 0,302 <sup>*</sup>
ССГ+АО	3,596 ± 0,05 <sup>o###</sup>	14,32 ± 0,485 <sup>ooo###</sup>	26,86 ± 0,565 <sup>ooo###</sup>	0,64 ± 0,050 <sup>ooo###</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>o</sup> $p < 0,05$ , <sup>oo</sup> $p < 0,01$  и <sup>ooo</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>o</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (*t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

А)

Б)



**Рис. 81 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в плазме крови половозрелых крыс при различных функциональных состояниях организма**

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Показатели исходного ПОЛ и спонтанного ПОЛ, имея тенденцию к снижению, не достигли контрольных значений (рис. 81 А, Б). Скорость аскорбатзависимого ПОЛ на фоне введения тималина и альфа-токоферола ацетата снизилась на 48,5% в сравнении с контролем ( $P < 0,001$ ). В условиях эксперимента зафиксировано, что уровень окислительной модификации белков снижается на 68% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ, а в сравнении с контрольными значениями этот показатель уменьшился на 47,5% ( $P < 0,001$ ).

Таким образом, комплекс витамина Е и тималина оказал ожидаемое антиоксидантное действие на некоторые исследуемые биохимические показатели плазмы крови половозрелых животных.

### 5.3. Старые животные

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в плазме крови старых интактных



крыс и, в сравнении с ними, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 23.

**Таблица 23**

Уровень свободно-радикальных процессов в плазме крови старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

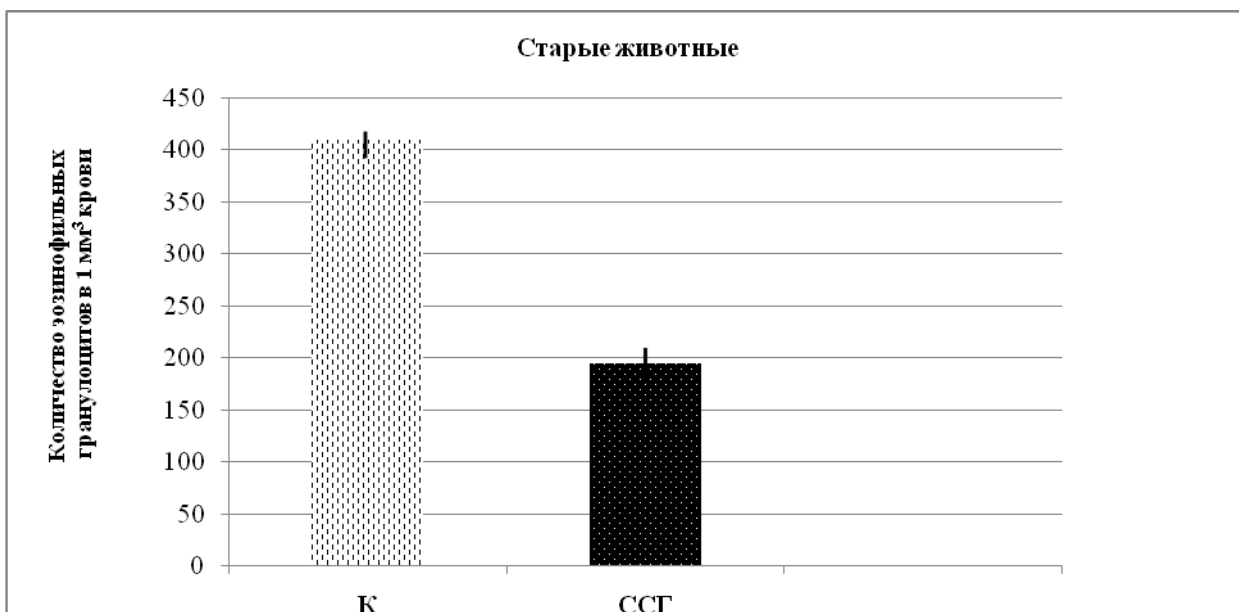
Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,2 мл плазмы крови	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	2,01 ± 0,064	25,17 ± 0,335	68,35 ± 0,643	0,86 ± 0,461
ССГ	3,77 ± 0,621*	38,18 ± 0,643***	87,51 ± 0,589*	2,23 ± 0,167***

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Хроническая ингаляция сероводородсодержащего природного газа АГКМ, в концентрации 90 мг/м<sup>3</sup> привела к выраженным изменениям уровня свободно-радикальных процессов этой возрастной группы. Зарегистрированы значимые изменения уровня свободно-радикальных процессов в плазме крови старых крыс, характеризующиеся увеличением содержания исходного ПОЛ на 87,5% ( $P < 0,05$ ), а так же усилением скорости спонтанного ПОЛ на 57% ( $P < 0,001$ ) и аскорбатзависимого ПОЛ на 28% ( $P < 0,05$ ). Зафиксировано возрастание окислительной модификации белков на 159% ( $P < 0,001$ ).

Результаты оценки стресс-реакции на фоне воздействия ССГ с применением эозинопенической пробы представлены на рис. 82. Они свидетельствуют о наличии выраженной стрессорной реакции у старых животных ( $P < 0,001$ ).

В плазме крови старых крыс (подгруппа ССГ+АО) в ходе эксперимента зафиксирована эозинофилия, как в сравнении с подгруппой ССГ, так и в сравнении с интактными животными ( $P < 0,001$ ), что объясняется компенсаторной антитоксической реакцией на действие экзотоксиканта.



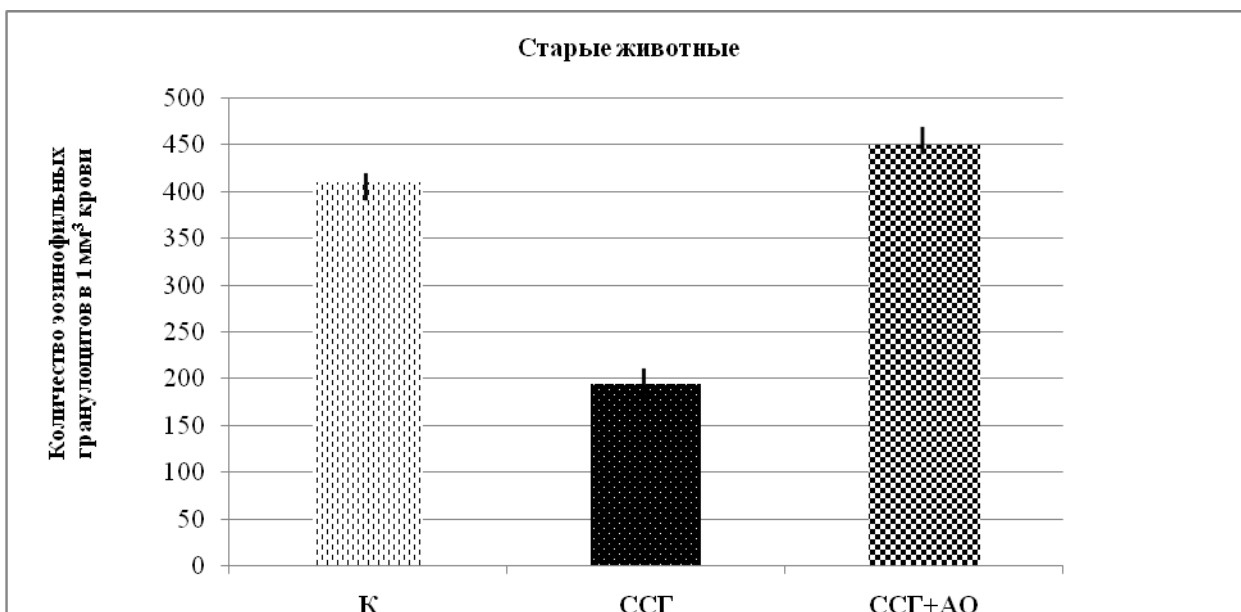
**Рис. 82** Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови старых крыс на фоне воздействия ССГ

В обоих случаях, это свидетельствует об уменьшении степени выраженности стрессорной реакции и о корригирующем действии введенного комплекса препаратов, аналогично полученным результатам ранее представленных в таблице 22 и на рис. 83 в двух других изучаемых подгруппах.

Совместное действие тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата в условиях стресса в плазме крови старых животных способствовала достоверному понижению интенсивности свободно-радикальных процессов (табл. 24).

Так, сочетанное введение препаратов в эксперименте вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 28%, замедление скорости спонтанного ПОЛ на 36,5% и аскорбатзависимого ПОЛ на 69%, в сравнении с группой ССГ ( $P < 0,001$ ).

Уровень окислительной модификации белков снизился на 71% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ ( $P < 0,001$ ). В сравнении с контрольными значениями показатель ОМБ оказался ниже на 24% ( $P < 0,001$ ), а скорость спонтанного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) замедлилась на 3,7% (рис. 84 А, Б).



**Рис. 83** Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови старых крыс на фоне ССГ и введении комплекса антиоксидантов

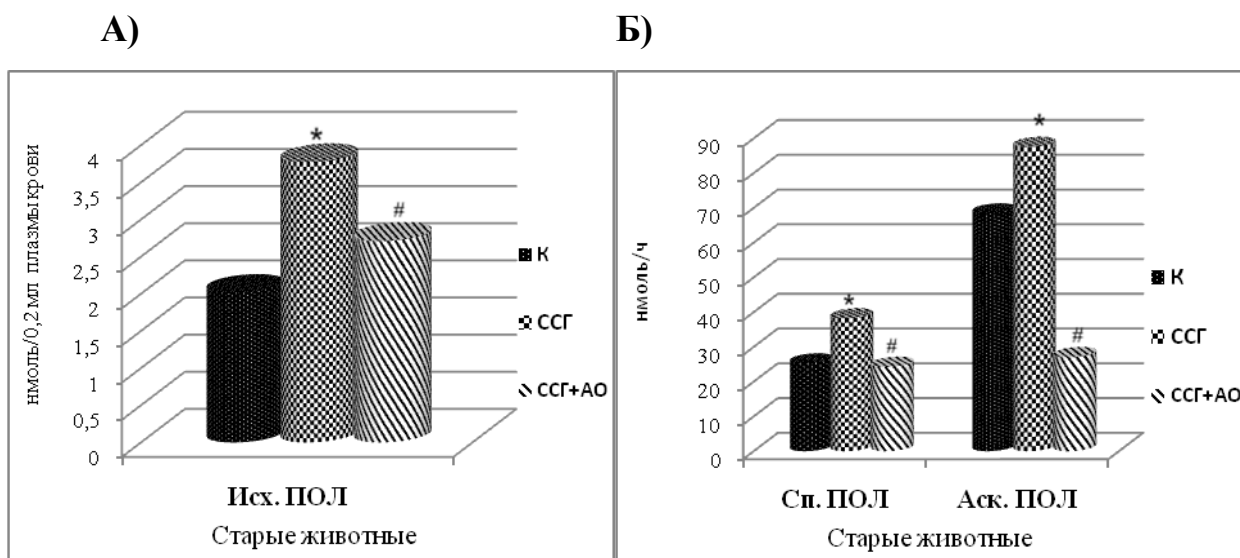
**Таблица 24**

Уровень свободно-радикальных процессов в плазме крови старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов (M±m)

Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,2 мл плазмы крови	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	2,01 ± 0,064	25,17 ± 0,335	68,35 ± 0,643	0,86±0,461
ССГ	3,77 ± 0,621*	38,18 ± 0,643***	87,51 ± 0,589*	2,23±0,167***
ССГ+АО	2,71 ± 0,591 <sup>0#</sup>	24,23 ± 0,647 <sup>000#</sup>	27,02 ± 0,328 <sup>000###</sup>	0,65±0,002 <sup>000###</sup>

*Примечание:* \*p<0,05, \*\*p<0,01 и \*\*\*p<0,001 в сравнении с контролем; <sup>0</sup>p<0,05, <sup>00</sup>p<0,01 и <sup>000</sup>p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05, ##p<0,01 и ###p<0,001 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>0#</sup> - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Сравнивая возрастные особенности реакции плазмы крови крыс у интактных животных, обращает на себя внимание тот факт, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, выше у старых крыс, достигая уровня 2,01±0,06 нмоль/мл (P<0,05). Значительно ниже показатели в молодом возрасте 1,86±0,02 нмоль/мл (P<0,05) и у половозрелых животных 1,13±0,023 нмоль/мл (P<0,05).

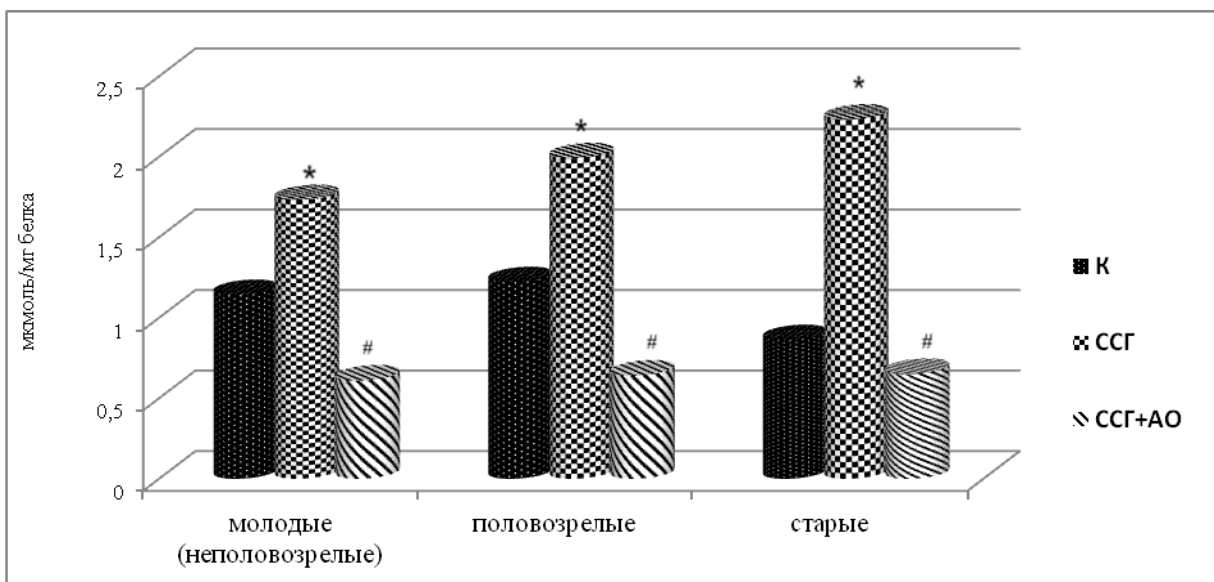


**Рис. 84 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в плазме крови старых крыс при различных функциональных состояниях организма**

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Отмечается увеличение скорости аскорбатзависимого ПОЛ ( $P < 0,05$ ) у молодых крыс по сравнению со старыми: с  $68,35 \pm 0,6$  до  $82,58 \pm 0,5$  нмоль/ч, а также снижение уровня спонтанного ПОЛ: с  $25,17 \pm 0,34$  до  $19,15 \pm 0,20$  нмоль/ч ( $P < 0,05$ ). Значимо ниже показатели пероксидации липидов в группе половозрелых интактных животных, как в сравнении с группой старых, так и с молодыми (неполовозрелыми) крысами ( $P < 0,05$ ). Так, у половозрелых животных скорость аскорбатзависимого ПОЛ ниже на 23% в сравнении со старыми животными ( $P < 0,05$ ) и на 37% меньше ( $P < 0,05$ ), чем у молодых крыс. Уровень спонтанного ПОЛ ниже на 45% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с группой интактных старых крыс и на 28% меньше того же показателя плазмы крови молодых (неполовозрелых) животных.

Окислительная модификация белков в плазме крови молодых интактных самцов выше, чем у старых и составила  $1,14 \pm 0,06$  мкмоль/мг белка, а у старых животных произошло значительное снижение этого показателя на 25% ( $P < 0,05$ ) (рис. 85).



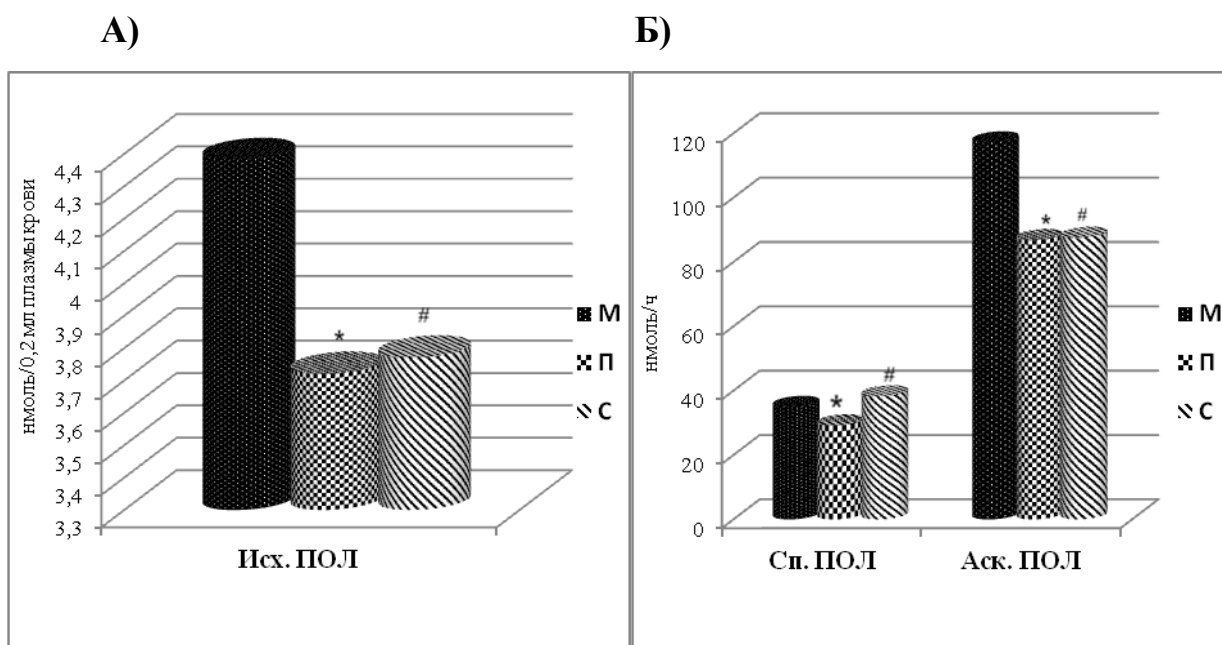
**Рис. 85 Возрастные особенности изменения показателей ОМБ в плазме крови крыс**

*Примечание: \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

При хроническом токсическом воздействии серосодержащего природного газа АГКМ интенсивность свободно-радикальных процессов и состояние антиоксидантной системы в плазме крови свидетельствуют о возрастных особенностях ответной реакции организма на действие токсиканта. Так, при сравнении показателей пероксидации липидов (рис. 86 А, Б) установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой в сравнении с половозрелыми животными выше у молодых самцов  $4,38 \pm 0,563$  нмоль/мл и старых  $3,77 \pm 0,621$  нмоль/мл ( $P < 0,05$ ). Усиление скорости аскорбатзависимого ПОЛ ( $P < 0,05$ ) отмечается у молодых животных по сравнению со старыми: с  $87,51 \pm 0,589$  нмоль/ч до  $117,12 \pm 0,653$  нмоль/ч, но обнаружено снижение спонтанного ПОЛ: с  $38,18 \pm 0,643$  до  $34,89 \pm 0,664$  нмоль/ч.

В условиях стресса значимо ниже показатели пероксидации липидов у половозрелых животных, как в сравнении с группой старых, так и молодых (неполовозрелых) крыс ( $P < 0,001$ ). Зафиксировано, что у половозрелых животных, подвергшихся воздействию серосодержащего газа, скорость аскорбатзависимого ПОЛ достигла  $86,78 \pm 0,436$  нмоль/ч, что на 26% ниже

того же показателя молодых животных. Уровень спонтанного ПОЛ у половозрелых крыс составил  $29,17 \pm 0,856$  нмоль/ч, что на 16% ниже, чем у группы молодых, и на 24% меньше этого же показателя в плазме крови старых животных.



**Рис. 86 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в плазме крови крыс**

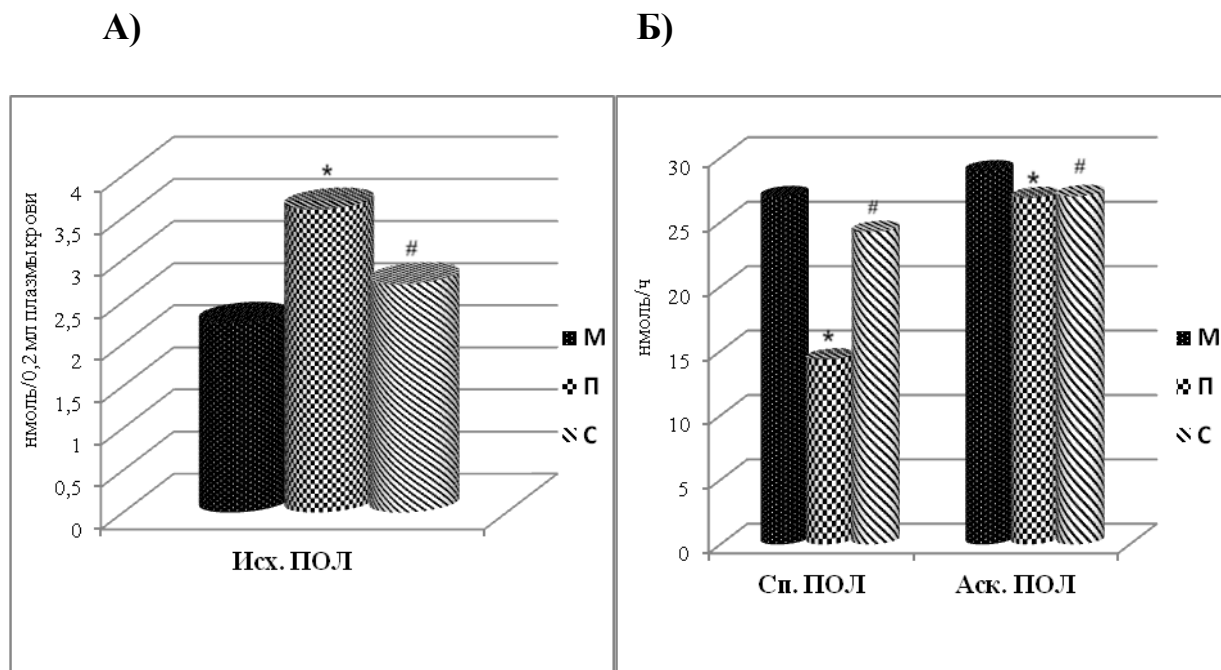
*Примечание: М – молодые (неполовозрелые) животные, П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

При токсическом воздействии серосодержащего газа окислительная модификация белков в молодом возрасте достоверно ниже, чем у старых и составила  $1,73 \pm 0,098$  мкмоль/мг белка. Наиболее высокий уровень ОМБ (рис. 85) наблюдается у старых животных, достигая  $2,23 \pm 0,167$  мкмоль/мг белка ( $P < 0,01$ ).

Во всех экспериментальных группах после введения  $\alpha$ -токоферола и тималина на фоне хронического стресса зарегистрирована тенденция к снижению изучаемых показателей к контрольным значениям (рис. 87 А, Б).

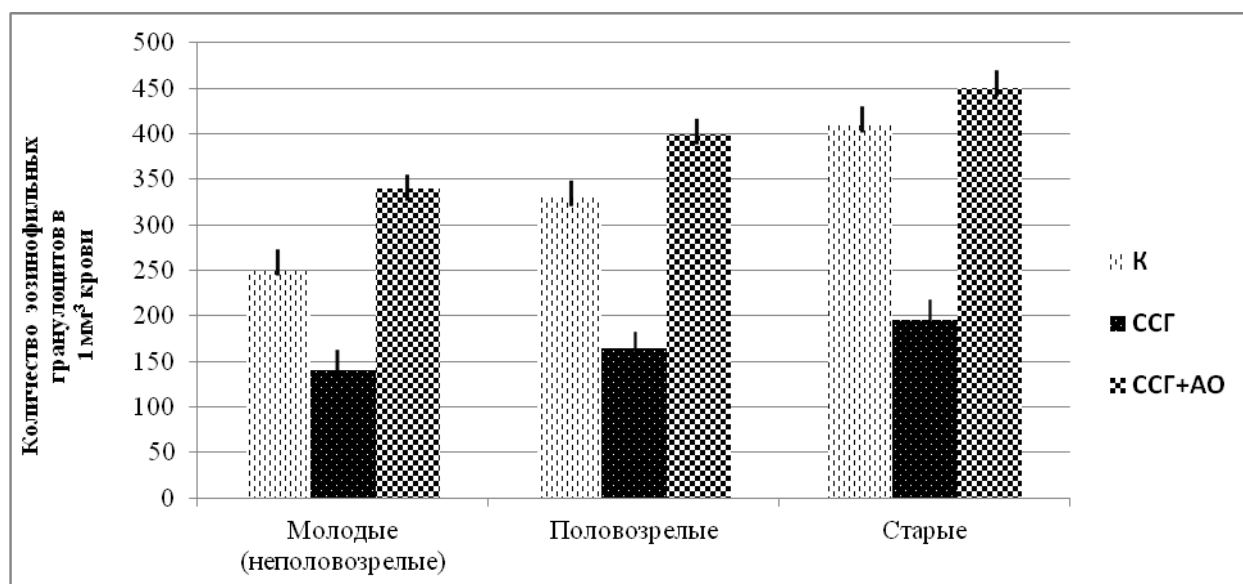
Полученные данные говорят о выраженном влиянии сероводородсодержащего природного газа АГКМ на уровень свободно-

радикальных процессов в плазме крови крыс, что отражает общую функциональную активность целостного организма.



**Рис. 87 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в плазме крови крыс**

Примечание: М – молодые животные (неполовозрелые), П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



**Рис. 88 Изменение количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм<sup>3</sup> крови крыс в онтогенезе на фоне ССГ и введения комплекса антиоксидантов**

При сравнительном анализе исследуемых показателей обращает на себя внимание тот факт, что на фоне хронического воздействия сероводородсодержащего газа Астраханского месторождения в плазме крови животных, независимо от возраста, развивается оксидативный стресс (рис. 85; 86 (А, Б); 87 (А, Б); 88).

Ответная стресс - реакция проявилась эозинопенией, увеличением исходного уровня ПОЛ, а так же повышением скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ, усилением окислительной модификации белков, что, в свою очередь, усугубляет токсический эффект сероводорода. Указанные изменения ярче проявились в плазме крови крыс молодого возраста. Изучение интенсивности окислительной модификации белков свидетельствует, что уровень скорости деструкции белков в плазме крови выше у старых животных. Это согласуется с литературными данными (G. Rao, E. Xia, A. Richardson, 1990) о том, что старение сопровождается разнонаправленными изменениями в активности ферментов и это позволяет сохранять определенный уровень физиологических процессов.



## **Глава 6. Возрастная динамика свободно-радикальных процессов в органах иммунной системы крыс**

Интенсификация свободно-радикальных процессов, вызванная хроническим ингаляторным воздействием ССГ, способствовала развитию окислительного стресса в плазме крови крыс. Так как кровь является межорганным связующим звеном, по состоянию ее антиоксидантной и прооксидантной системы можно судить о статусе всего организма в целом.

При хроническом токсическом стрессе серосодержащие поллютанты нарушают обменные процессы между микроциркуляторным руслом и клетками. Выраженность защитных реакций организма на внешние воздействия во многом зависит от морфофункционального состояния тканей органов (Саноцкий И.В., Фоменко В. Н., 1979; Schulber D., Piasecki D., 2001; Потапнев М.П., 2002; Радыш И.В. и др., 2008). Ингибируя электронный транспорт в митохондриях путем формирования прочной связи с железом в молекулах цитохромоксидаз, сероводород вызывает острую тканевую гипоксию (Полунин И. Н., Асфандияров Р. И., Тризно Н. Н., 1999; Мажитова, М. В., 2012; Шишкина Т.А. и др., 2018).

В связи с этим, зарегистрированные изменения изучаемых показателей плазмы крови в условиях гипоксии, независимо от возраста, отразились в ответных реакциях органов иммунной системы крыс.

### **6.1 Тимус**

#### **6.1.1 Молодые (неполовозрелые) животные**

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в тимусе молодых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 25.

В условиях стресса в тимусе молодых животных зарегистрировано повышение окислительной деструкции белков в 3,3 раза ( $P < 0,01$ ). В сравнении с контрольными значениями установлено, что содержание

продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, при хроническом воздействии серосодержащего газа уменьшается.

**Таблица 25**

Уровень свободно-радикальных процессов в тимусе молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	7,32±0,357	55,57±0,932	66,17±0,553	0,26±0,191
ССГ	4,44±0,349***	40,11±0,448***	52,70±0,810***	0,85±0,040**

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Так, уровень исходного ПОЛ снизился на 39% ( $P < 0,001$ ), а скорость аскорбатзависимого и спонтанного ПОЛ уменьшилась соответственно на 20% и 28% ( $P < 0,001$ ).

Анализ полученных результатов позволяет утверждать, что, несмотря на снижение уровня исходного ПОЛ, а так же скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ в ткани тимуса молодых животных в условиях эксперимента, увеличение окислительной деструкции белков служит доказательством специфического повреждающего действия сероводородсодержащего газа на белковый обмен.

В условиях токсического стресса в тимусе рассматриваемой возрастной группы на фоне введения  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина произошли значимые изменения интенсивности свободно-радикальных процессов (табл. 26).

В сравнении с группой, подвергшихся воздействию серосодержащего природного газа, зарегистрировано (рис. 89 А, Б) снижение показателя исходного ПОЛ на 60% ( $P < 0,01$ ), а так же снижение скорости спонтанного ПОЛ на 91% ( $P < 0,001$ ) и аскорбатзависимого ПОЛ на 82% ( $P < 0,001$ ).

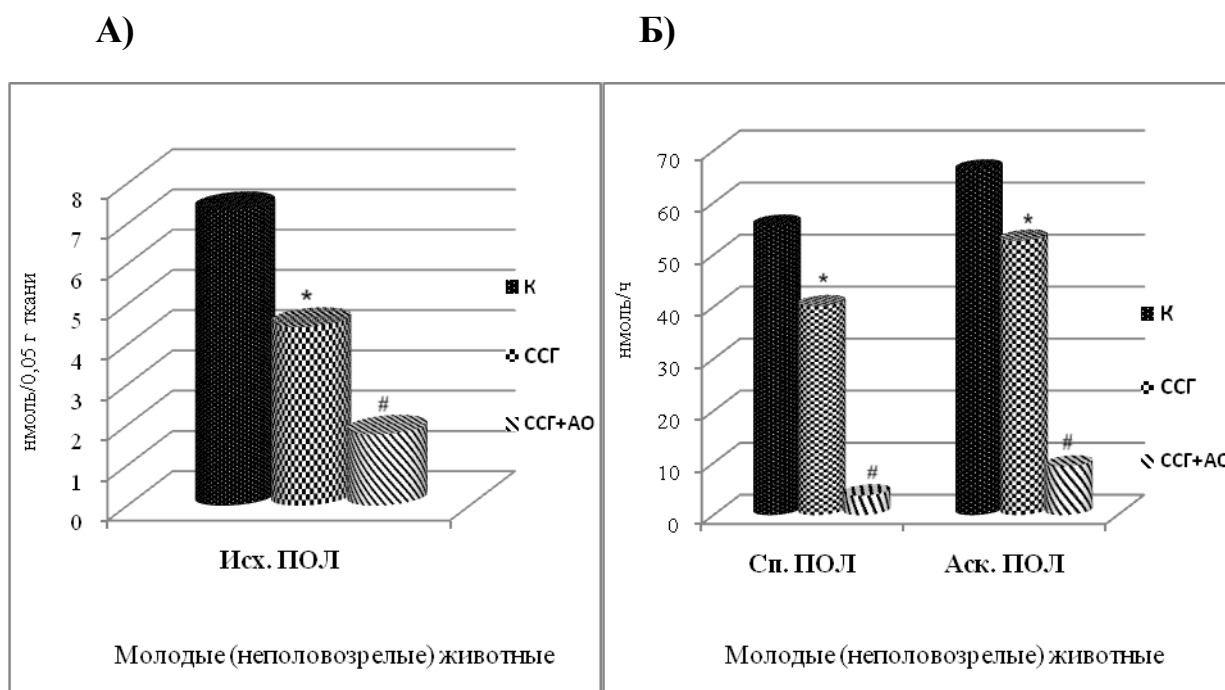
Уровень окислительной модификации белков оказался ниже, чем в группе ССГ на 98% ( $P < 0,001$ ).

**Таблица 26**

Уровень свободно-радикальных процессов в тимусе молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	7,32±0,357	55,57±0,932	66,17±0,553	0,26±0,191
ССГ	4,44±0,349***	40,11±0,448***	52,70±0,810***	0,85±0,040**
ССГ + АО	1,77±0,697 <sup>00##</sup>	3,73±0,971 <sup>000###</sup>	9,30±0,359 <sup>000###</sup>	0,02±0,007 <sup>000###</sup>

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  и \*\*\*  $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>0</sup>  $p < 0,05$ , <sup>00</sup>  $p < 0,01$  и <sup>000</sup>  $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,01$  и ###  $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>0</sup># - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



**Рис. 89 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани тимуса молодых крыс при различных функциональных состояниях организма**

Примечание: \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

В условиях эксперимента введенный комплекс антиоксидантов способствовал повышению резистентности ткани тимуса молодых животных

к действию токсиканта, понизив уровень свободно-радикальных процессов существенно ниже контрольных значений.

Отмечается значимое уменьшение исходного ПОЛ на 76% ( $P<0,001$ ), а так же снижение скорости спонтанного ПОЛ на 93% ( $P<0,001$ ) и аскорбатзависимого ПОЛ на 86% ( $P<0,001$ ). Окислительная модификация белков ниже, чем в контроле на 92% ( $P<0,001$ ).

### 6.1.2 Половозрелые животные

Результаты исследования ТБК – реактивных продуктов в ткани тимуса половозрелых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 27.

**Таблица 27**

Уровень свободно-радикальных процессов в тимусе половозрелых животных, подвергшихся хроническому стрессу ( $M\pm m$ )

Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,22±0,346	32,05±0,722	38,32±0,584	0,13±0,057
ССГ	4,69±0,822*	30,00±0,598*	48,32±0,595**	0,86±0,084***

*Примечание: \*  $p<0,05$ , \*\*  $p<0,01$  и \*\*\*  $p<0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p<0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

В условиях стресса (табл. 27) зарегистрированы значимые изменения уровня свободно-радикальных процессов этой возрастной группы животных, характеризующиеся повышением содержания исходного ПОЛ на 46% ( $P<0,05$ ), а так же увеличением скорости аскорбатзависимого ПОЛ на 26% ( $P<0,01$ ). В сравнении с контролем на этом фоне отмечается снижение скорости спонтанного ПОЛ на 6,4% ( $P<0,001$ ). Кроме того, о развитии окислительного стресса в ткани тимуса половозрелых животных при воздействии серосодержащих поллютантов свидетельствует зафиксированный существенный рост окислительной модификации белков в 6,6 раза ( $P<0,001$ ).

Уровень свободно-радикальных процессов в тимусе половозрелых животных, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

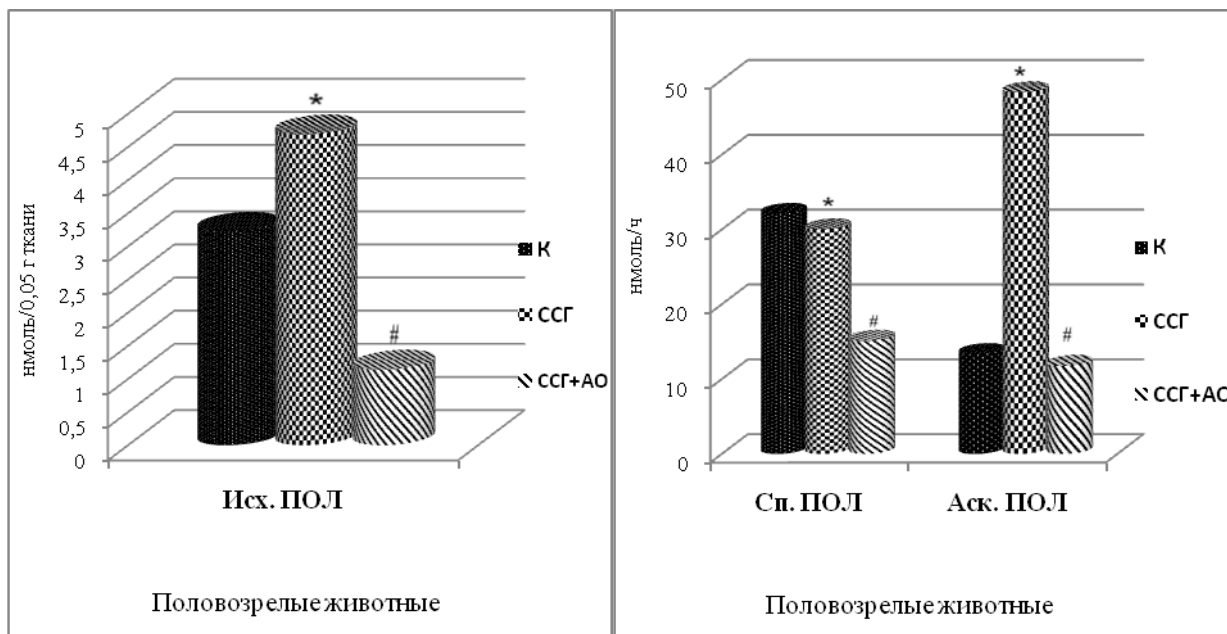
Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,22±0,346	32,05±0,722	38,32±0,584	0,13±0,057
ССГ	4,69±0,822*	30,00±0,598*	48,32±0,595**	0,86±0,084***
ССГ+АО	1,14±0,544 <sup>◊◊#</sup>	15,11±0,431 <sup>◊◊##</sup>	11,77±0,416 <sup>◊◊##</sup>	0,01±0,004 <sup>◊◊#</sup>

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◊</sup> $p < 0,05$ , <sup>◊◊</sup> $p < 0,01$  и <sup>◊◊◊</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с группой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с группой получавшей ССГ + АО; \*<sup>◊#</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (*t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

На фоне ингаляции природным газом (табл. 28) сочетанное введение препаратов вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 76% ( $P < 0,01$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 50% и аскорбатзависимого ПОЛ на 76%, в сравнении с группой ССГ ( $P < 0,001$ ).

А)

Б)



**Рис. 90 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани тимуса половозрелых крыс при различных функциональных состояниях организма**

Примечание: \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между подгруппами (*t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Уровень окислительной модификации белков уменьшился на 99% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ ( $P<0,001$ ).

Сравнивая результаты исследования группы получавшей ингаляцию природным газом на фоне введения комбинации антиоксидантов с интактными животными, необходимо отметить, что показатель ОМБ снижается на 92% ( $P<0,05$ ), а скорость спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ ( $P<0,001$ ) замедляется на 53% и на 69% соответственно (Рис. 90 А, Б).

Введение комплекса препаратов  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина в условиях действия токсиканта проявило выраженные антиоксидантные свойства, вызвав снижение исходного ПОЛ в тимусе половозрелых крыс на 65% ( $P<0,01$ ) в сравнении с контролем.

### 6.1.3 Старые животные

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в тимусе старых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 29.

**Таблица 29**

Уровень свободно-радикальных процессов в тимусе старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M\pm m$ )

Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,96±0,457	20,30±0,634	18,76±0,316	0,09±0,044
ССГ	18,90±0,712***	120,00±0,693***	195,97±0,694***	0,73±0,118***

*Примечание: \* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$  и \*\*\* $p<0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p<0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

В условиях гипоксии в ткани тимуса старых животных зарегистрировано резкое повышение окислительной деструкции белков и увеличение всех показателей ПОЛ (табл. 29).

Так, в сравнении с контрольными значениями установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, при хроническом воздействии серосодержащего газа значительно возрастает. Уровень исходного ПОЛ увеличивается в 5 раз ( $P < 0,001$ ). Зафиксирован также рост скорости спонтанного ПОЛ в 6 раз ( $P < 0,001$ ) и аскорбатзависимого ПОЛ в 10 раз ( $P < 0,001$ ). Окислительная модификация белков увеличилась в 8 раз ( $P < 0,001$ ).

Полученные данные об интенсивной генерации свободно-радикальных продуктов в условиях стресса являются доказательством повреждающего действия сероводородсодержащего природного газа на ткань тимуса.

**Таблица 30**

Уровень свободно-радикальных процессов в тимусе старых животных, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,96±0,457	20,30±0,634	18,76±0,316	0,09±0,044
ССГ	18,90±0,712***	120,00±0,693***	195,97±0,694***	0,73±0,118***
ССГ+АО	1,0±0,351 <sup>○○#</sup>	4,87±0,459 <sup>○○#</sup>	17,21±0,319 <sup>○○#</sup>	0,07±0,025 <sup>○○#</sup>

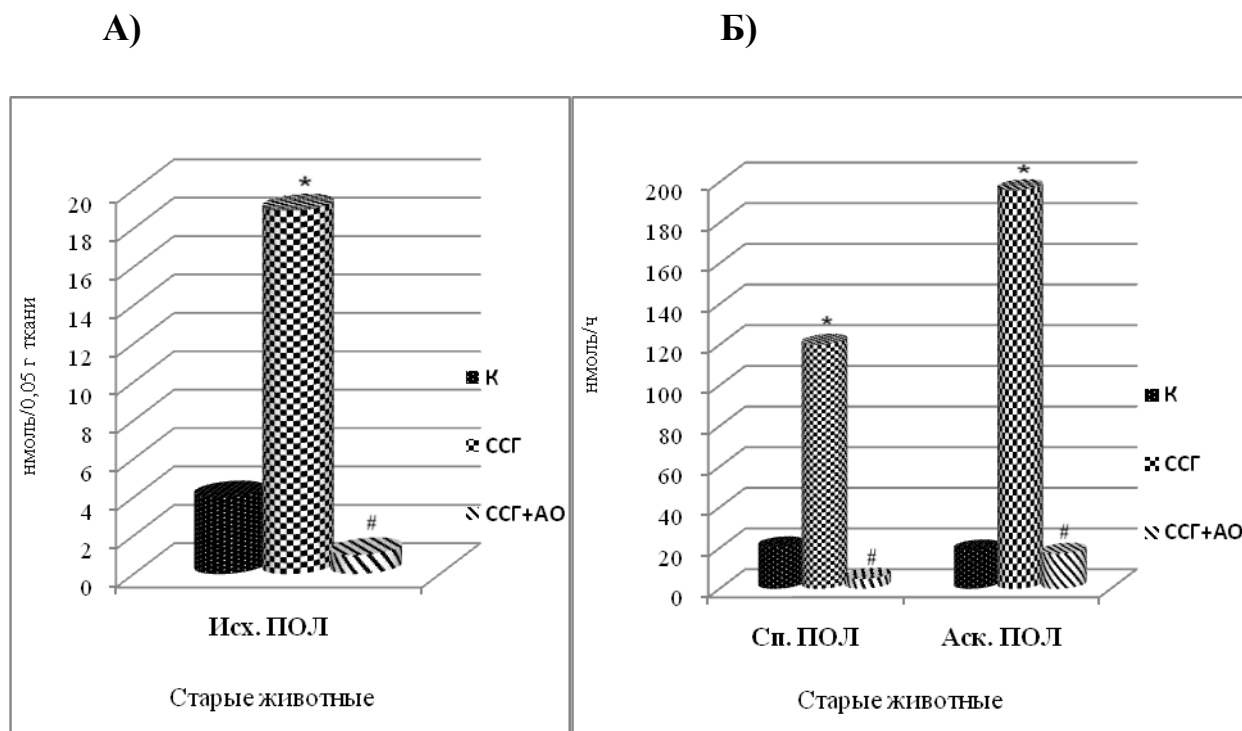
*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◊</sup> $p < 0,05$ , <sup>○○</sup> $p < 0,01$  и <sup>○○○</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>0#</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Совместное действие  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина в условиях токсического стресса в тимусе старых животных способствовало достоверному понижению интенсивности свободно-радикальных процессов (табл. 30).

При анализе результатов, необходимо отметить выраженное снижение содержания исходного ПОЛ на 95% ( $P < 0,001$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 96% и аскорбатзависимого ПОЛ - на 91%, в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ). Уровень окислительной модификации белков

снизились на 90% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ ( $P < 0,001$ ).

В условиях эксперимента также зарегистрировано, снижение уровня липидной пероксидации и окислительной модификации белков в сравнении с контрольными значениями (рис. 91 А, Б). Так, на фоне действия экзотоксиканта и введения комплекса антиоксидантов наблюдается снижение содержания исходного ПОЛ на 75% ( $P < 0,001$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 76% и аскорбатзависимого ПОЛ - на 8,3%, в сравнении с контрольными значениями ( $P < 0,001$ ).



**Рис. 91 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани тимуса старых крыс при различных функциональных состояниях организма**

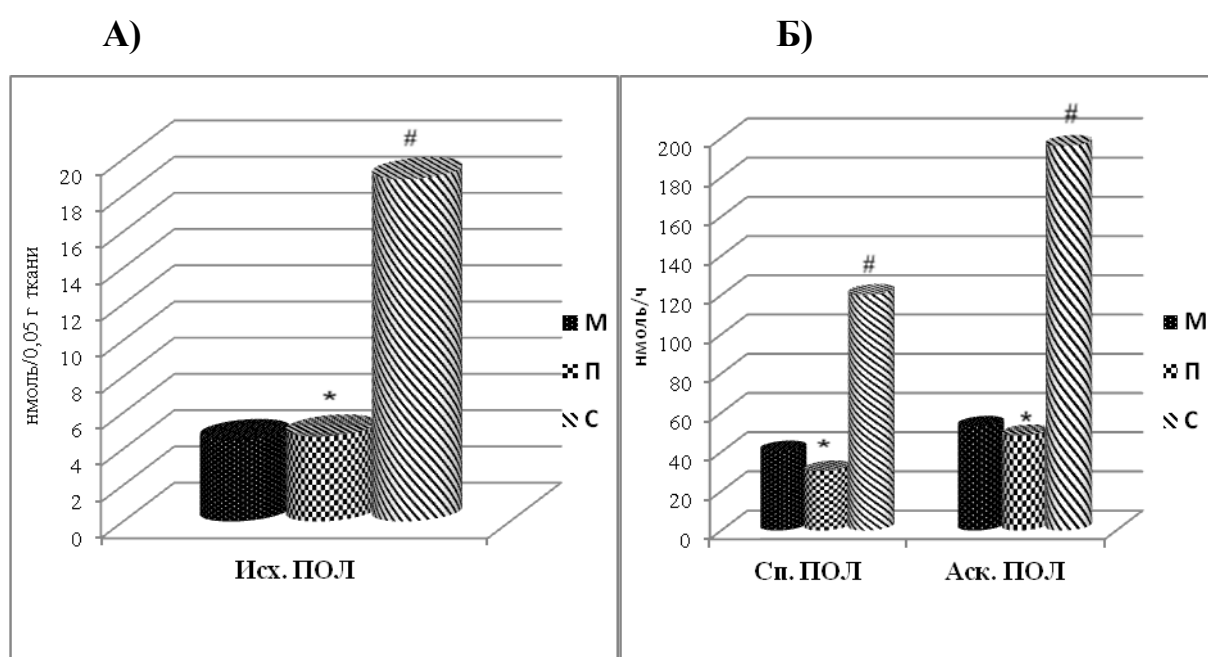
*Примечание: \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Уровень окислительной модификации белков снизился на 22% в сравнении с интактными животными рассматриваемой возрастной группы ( $P < 0,05$ ).

При сравнении возрастных особенностей прооксидантной и антиоксидантной системы ткани тимуса крыс у интактных животных



обращает на себя внимание тот факт, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой выше у молодых крыс, достигая уровня  $7,32 \pm 0,357$  нмоль/0,05 г ткани ( $P < 0,05$ ), значительно ниже этот показатель у половозрелых животных ( $3,22 \pm 0,346$  нмоль/0,05 г ткани,  $P < 0,05$ ). Отмечается усиление скорости аскорбатзависимого ПОЛ ( $P < 0,05$ ) у интактных молодых крыс по сравнению с половозрелыми: с  $38,32 \pm 0,584$  до  $66,17 \pm 0,5$  нмоль/ч, а так же повышение уровня спонтанного ПОЛ: с  $32,05 \pm 0,722$  до  $55,57 \pm 0,932$  нмоль/ч.



**Рис. 92 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани тимуса крыс подгруппы ССГ**

Примечание: М – молодые животные (неполовозрелые), П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между группами ( $t$ -критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Значимо ниже показатели пероксидации липидов в ткани тимуса в группе старых интактных животных, как в сравнении с группой половозрелых, так и с молодыми (неполовозрелыми) крысами ( $P < 0,05$ ). Так, у старых животных скорость аскорбатзависимого ПОЛ составила  $18,76 \pm 0,316$  нмоль/ч, а уровень спонтанного ПОЛ  $20,3 \pm 0,634$  нмоль/ч.

Уровень окислительной модификации белков выше в тимусе молодых интактных животных  $0,26 \pm 0,191$  мкмоль/мг белка ( $P < 0,05$ ), значимо ниже в группе старых крыс  $0,09 \pm 0,044$  мкмоль/мг белка (рис. 94).

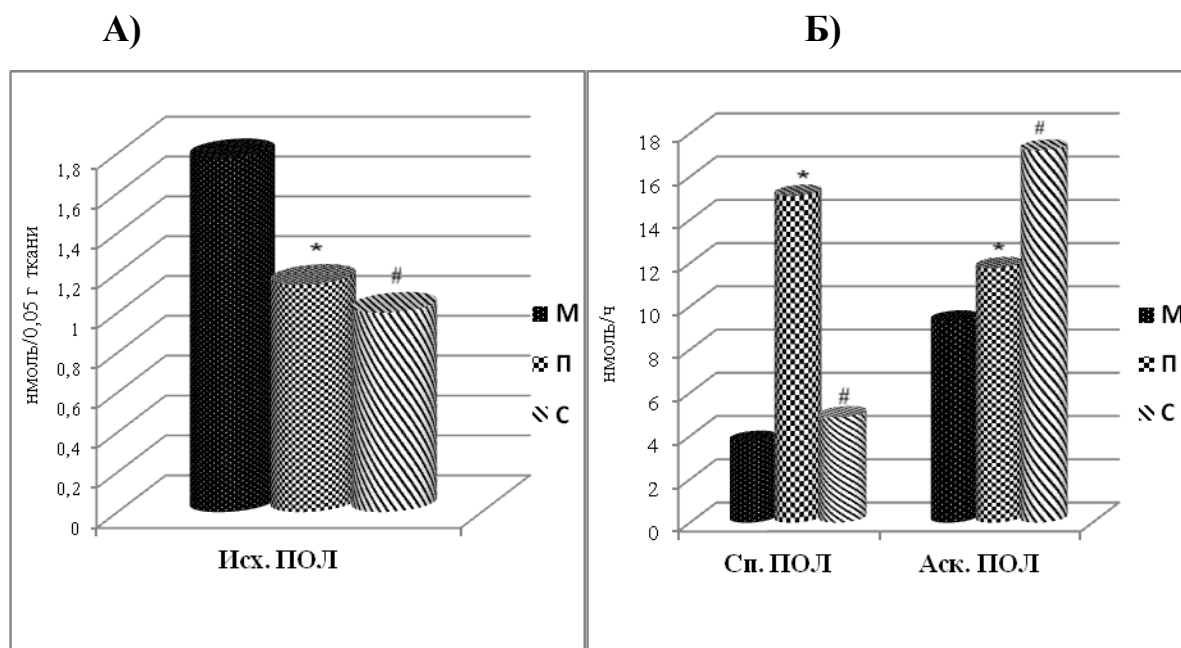
При хроническом воздействии серосодержащего природного газа АГКМ интенсивность свободно-радикальных процессов и уровень антиоксидантной защиты в ткани тимуса (рис. 92 А, Б) свидетельствует о возрастных особенностях функционирования иммунной системы в ответ на действие токсиканта.

Сравнивая показатели пероксидации липидов установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой с возрастом увеличивается и способствует развитию окислительного стресса, о чем свидетельствует рост показателей исходного ПОЛ, аскорбатзависимого ПОЛ и спонтанного ПОЛ у старых животных, как в сравнении с молодыми, так и с половозрелыми животными ( $P < 0,05$ ). Зарегистрированы показатели повышения исходного ПОЛ до  $18,9 \pm 0,712$  нмоль/0,05 г ткани. Обнаружено усиление скорости спонтанного и индуцированного ПОЛ до  $120,0 \pm 0,693$  нмоль/ч и до  $195,97 \pm 0,694$  нмоль/ч соответственно, усугубляющих токсический эффект сероводорода в тимусе старых крыс на фоне происходящих инволюционных процессов.

Значительно более низкий уровень исходного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) в условиях стресса зафиксирован у молодых животных  $4,44 \pm 0,349$  нмоль/0,05г ткани в сравнении с половозрелыми крысами, но отмечается рост скоростей спонтанного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) до  $40,11 \pm 0,448$  нмоль/ч и индуцированного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) до  $52,7 \pm 0,81$  нмоль/ч.

Уровень окислительной модификации белков выше в тимусе молодых и половозрелых экспериментальных животных ( $P < 0,05$ ) -  $0,85 \pm 0,040$  мкмоль/мг белка и  $0,86 \pm 0,084$  мкмоль/мг белка соответственно. Значительно ниже показатель в подгруппе (ССГ) старых крыс  $0,73 \pm 0,118$  мкмоль/мг белка (рис. 94).

Полученные данные свидетельствуют о повреждающем действии сероводородсодержащего природного газа на ткань тимуса и развитии разной степени выраженности оксидативного стресса во всех возрастных группах.



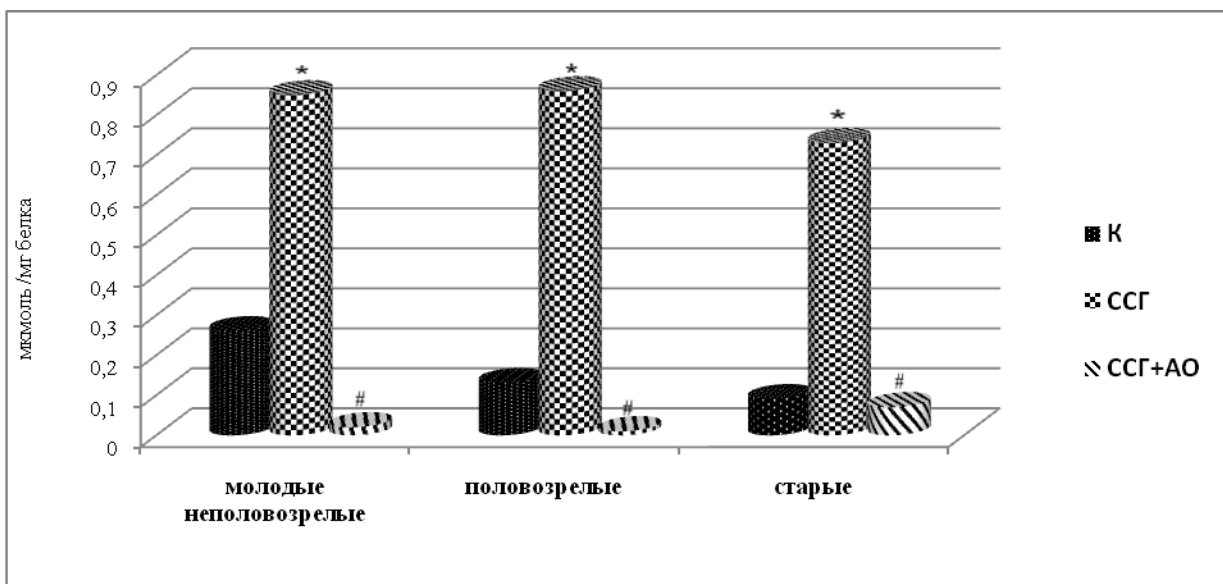
**Рис. 93 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани тимуса крыс подгруппы ССГ+АО**

*Примечание: М – молодые животные (неполовозрелые), П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Несмотря на снижение показателей ПОЛ у молодых животных в условиях эксперимента, на основе анализа результатов исследования можно говорить о том, что адаптивные процессы в организме этой возрастной группы еще окончательно не сформированы, в связи с этим ответные реакции на токсическое воздействие имеют разнонаправленный характер.

Введение комплекса препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата на фоне действия токсиканта проявило выраженные антиоксидантные возможности ткани органа, вызвав снижение всех показателей свободно-радикальных процессов во всех возрастных группах (рис. 93 А, Б; 94).

Более выраженный корригирующий эффект комбинативного введения применяемых препаратов был зарегистрирован у старых крыс в сравнении с контрольными значениями ( $P < 0,001$ ) молодых и половозрелых животных.



**Рис. 94** Возрастные особенности изменения уровня окислительной модификации белков в ткани тимуса крыс при различных функциональных состояниях организма

Примечание: М – молодые животные (неполовозрелые), П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # -  $p < 0,05$  – достоверность различий между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

## 6.2 Паховые лимфатические узлы

### 6.2.1 Молодые (неполовозрелые) животные

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в ткани лимфатических узлов молодых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 31.

**Таблица 31**

Уровень свободно-радикальных процессов в паховых лимфатических узлах молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу (M±m)

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	7,89±0,382	11,95±0,783	16,44±0,945	0,08±0,033
ССГ	11,48±0,820*	69,71±0,730***	64,11±0,76***	0,54±0,057***

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

В условиях гипоксии в паховых лимфатических узлах молодых животных зарегистрировано повышение окислительной деструкции белков и увеличение всех показателей ПОЛ (табл. 31). Так, в сравнении с контрольными значениями, установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой при хроническом воздействии серосодержащих поллютантов возрастает. Уровень исходного ПОЛ повышается на 45,5% ( $P < 0,01$ ). В 5,8 раза ( $P < 0,001$ ) отмечается усиление скорости спонтанного ПОЛ и рост скорости аскорбатзависимого ПОЛ на 74% ( $P < 0,001$ ). Зафиксировано возрастание окислительной модификации белков в 6,8 раза ( $P < 0,001$ ).

Полученные данные свидетельствуют о повреждающем эффекте хронической гипоксии на ткань паховых лимфоузлов, развивающейся на фоне оксидативного стресса, вызванного ингаляцией сероводородсодержащего газа.

В условиях стресса в паховых лимфатических узлах рассматриваемой возрастной группы (табл. 32) на фоне комбинативного введения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата произошли существенные изменения интенсивности свободно-радикальных процессов.

**Таблица 32**

Уровень свободно-радикальных процессов в паховых лимфатических узлах молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

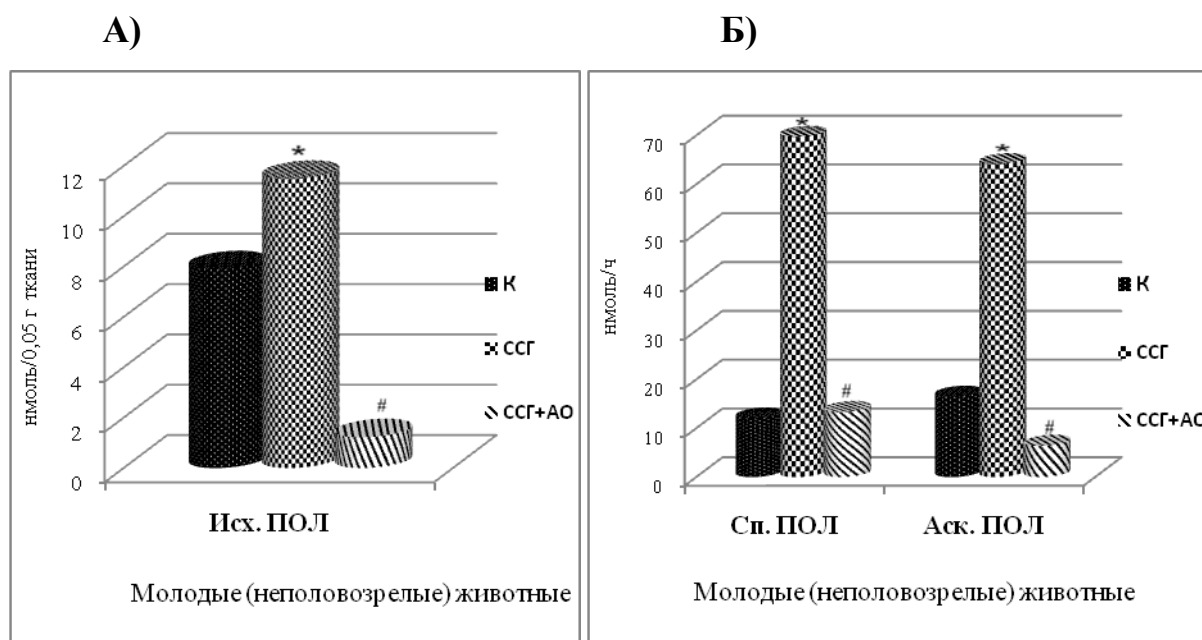
Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	7,89±0,382	11,95±0,783	16,44±0,945	0,08±0,033
ССГ	11,48±0,820**	69,71±0,730***	64,11±0,76***	0,54±0,057***
ССГ + АО	1,22±0,458 <sup>◇◇◇#</sup>	13,33±0,073 <sup>◇◇◇#</sup>	6,40±0,210 <sup>◇◇◇###</sup>	0,07±0,033 <sup>◇◇◇#</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◇</sup> $p < 0,05$ , <sup>◇◇</sup> $p < 0,01$  и <sup>◇◇◇</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>◇#</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (*t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Так, применение антиоксидантов в эксперименте вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 89%, замедление скорости спонтанного ПОЛ на 81% и аскорбатзависимого ПОЛ на 90%, в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ).

Уровень окислительной модификации белков снизился на 87% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ ( $P < 0,001$ ).

Комплекс антиоксидантов достоверно снизил в лимфатических узлах уровень исходного ПОЛ на 84,5% ( $P < 0,01$  в сравнении с контролем) (Рис. 95 А, Б). Скорость аскорбатзависимого ПОЛ ( $P < 0,001$ ) уменьшилась на 61%, а показатель ОМБ снизился на 12,5% в сравнении с контрольными значениями ( $P < 0,05$ ).



**Рис. 95 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани паховых лимфоузлов молодых (неполовозрелых) крыс при различных функциональных состояниях организма**

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

### 6.2.2 Половозрелые животные

Результаты исследования ТБК – реактивных продуктов в ткани паховых лимфатических узлов половозрелых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 33.

Таблица 33

Уровень свободно-радикальных процессов в паховых лимфатических узлах половозрелых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	2,49±0,293	11,54±0,662	5,89±0,697	0,11±0,019
ССГ	11,73±0,493***	76,18±0,840***	79,20±0,759***	0,54±0,019***

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами ( $t$ -критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Токсическое воздействие природного газа способствовало активизации свободно-радикальных процессов в паховых лимфоузлах половозрелых крыс. Стрессогенный фактор вызвал увеличение всех показателей ПОЛ: исходного - в 4,7 раза ( $P < 0,001$ ), скорость спонтанного ПОЛ возросла в 6,6 раза ( $P < 0,001$ ) и поднялся уровень аскорбатзависимого ПОЛ (в 13,4 раза  $P < 0,001$ ) в сравнении с контролем. Окислительная модификация белков увеличилась в 5 раз в сравнении с тем же показателем у интактных животных ( $P < 0,001$ ).

Полученные данные свидетельствуют о развитии окислительного стресса в ткани паховых лимфоузлов половозрелых животных при хронической ингаляции серосодержащего газа.

Таблица 34

Уровень свободно-радикальных процессов в паховых лимфатических узлах половозрелых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

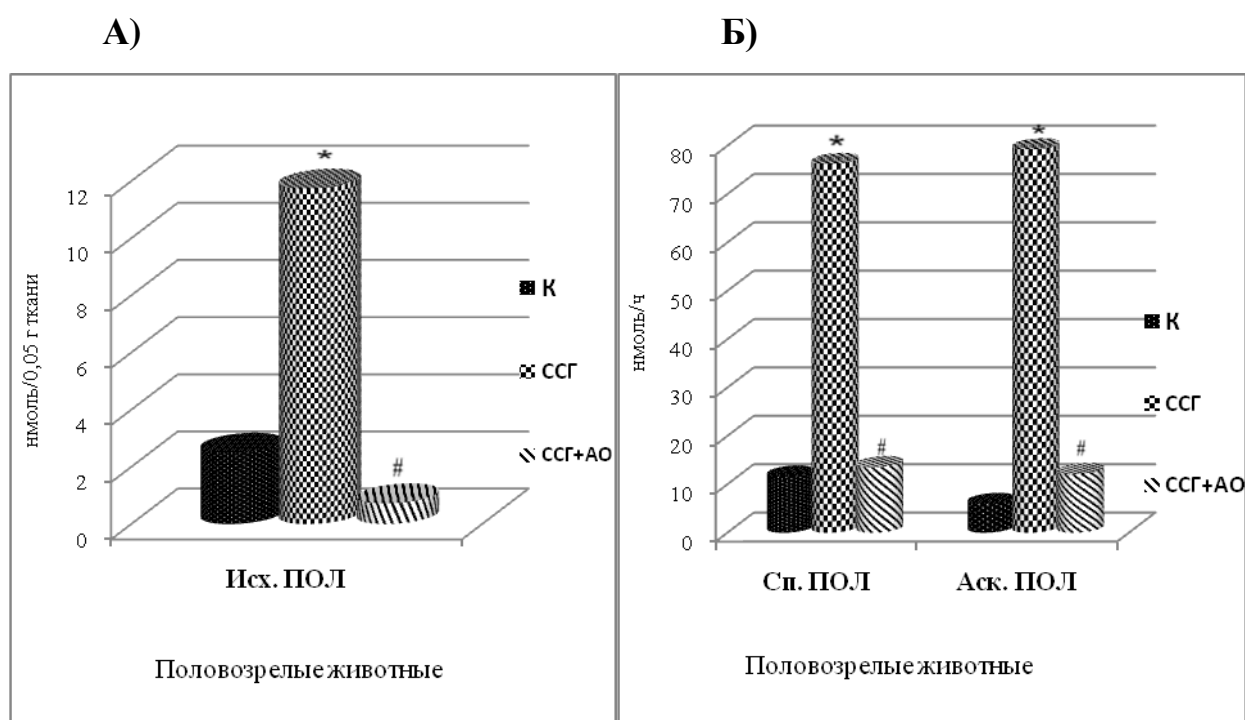
Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	2,49±0,293	11,54±0,662	5,89±0,697	0,11±0,019
ССГ	11,73±0,493***	76,18±0,840***	79,20±0,759***	0,54±0,019***
ССГ+АО	0,72±0,445 <sup>◇◇◇#</sup>	13,53±0,501 <sup>◇◇◇#</sup>	12,08±0,548 <sup>◇◇◇###</sup>	0,08±0,032 <sup>◇◇◇#</sup>

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◇</sup> $p < 0,05$ , <sup>◇◇</sup> $p < 0,01$  и <sup>◇◇◇</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>◇</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами ( $t$ -критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

В то время как сочетанное введение антиоксидантов на фоне ингаляции природным газом (табл. 34) вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 94% ( $P < 0,001$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 82% и аскорбатзависимого ПОЛ на 85%, в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ).

Уровень окислительной модификации белков снизился на 85% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ ( $P < 0,001$ ).

Анализируя изменение интенсивности свободно-радикальных процессов данной подгруппы (ССГ + АО) в сравнении с интактными животными (рис. 96 А, Б), можно отметить, что совместное действие альфа-токоферола ацетата и тималина вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 71% ( $P < 0,05$ ) и уменьшение уровня ОМБ на 27% ( $P < 0,05$ ).



**Рис. 96 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани паховых лимфоузлов половозрелых животных при различных функциональных состояниях организма**

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Это свидетельствует о корригирующем действии введенного комплекса препаратов на ткань лимфатических узлов половозрелых крыс.



### 6.2.3 Старые животные

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в паховых лимфатических узлах старых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 35.

В условиях гипоксии в ткани лимфатических узлов старых животных зарегистрировано повышение всех показателей ПОЛ (табл. 35).

Так, в сравнении с контрольными значениями установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой при хроническом воздействии серосодержащего газа, способствует увеличению уровня исходного ПОЛ в 10 раз ( $P < 0,001$ ).

**Таблица 35**

Уровень свободно-радикальных процессов в паховых лимфатических узлах старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	1,22±0,325	5,709±0,723	15,68±0,303	0,15±0,045
ССГ	12,43±0,433***	74,91±0,814***	77,7±0,741***	0,04±0,027*

*Примечание: \* p<0,05, \*\* p<0,01 и \*\*\* p<0,001 в сравнении с контролем; \* - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Отмечается повышение скорости спонтанного ПОЛ в 13 раз ( $P < 0,001$ ) и усилении аскорбатзависимого ПОЛ в 5 раз ( $P < 0,001$ ) в сравнении с контролем. Необходимо отметить, что данные изменения зарегистрированы на фоне снижения уровня окислительной модификации белков на 73% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с интактными животными.

Вероятно, что активизация всех показателей ПОЛ под действием стрессора способствовала вовлечению в адаптивный процесс других составляющих звеньев антиоксидантного статуса органов иммунной системы старых крыс, что отразилось снижением ОМБ в ответной реакции на токсический эффект сероводорода. Этот результат исследования еще раз

подтверждает ранее приведенные данные литературы (G. Rao, E. Xia, A. Richardson, 1990) о том, что старение сопровождается разнонаправленными изменениями активностей ферментов, позволяющими на новом функциональном уровне поддерживать физиологические процессы.

Совместное действие  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина в условиях стресса в паховых лимфоузлах старых животных способствовало достоверному снижению интенсивности свободно-радикальных процессов (табл. 36).

При анализе полученных результатов (рис. 97 А, Б), отмечается уменьшение содержания исходного ПОЛ на 78% ( $P < 0,001$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 68% и аскорбатзависимого ПОЛ на 24%, в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ). Уровень окислительной модификации белков на этом фоне возрастает на 25% ( $P < 0,001$ ).

**Таблица 36**

Уровень свободно-радикальных процессов в паховых лимфатических узлах старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

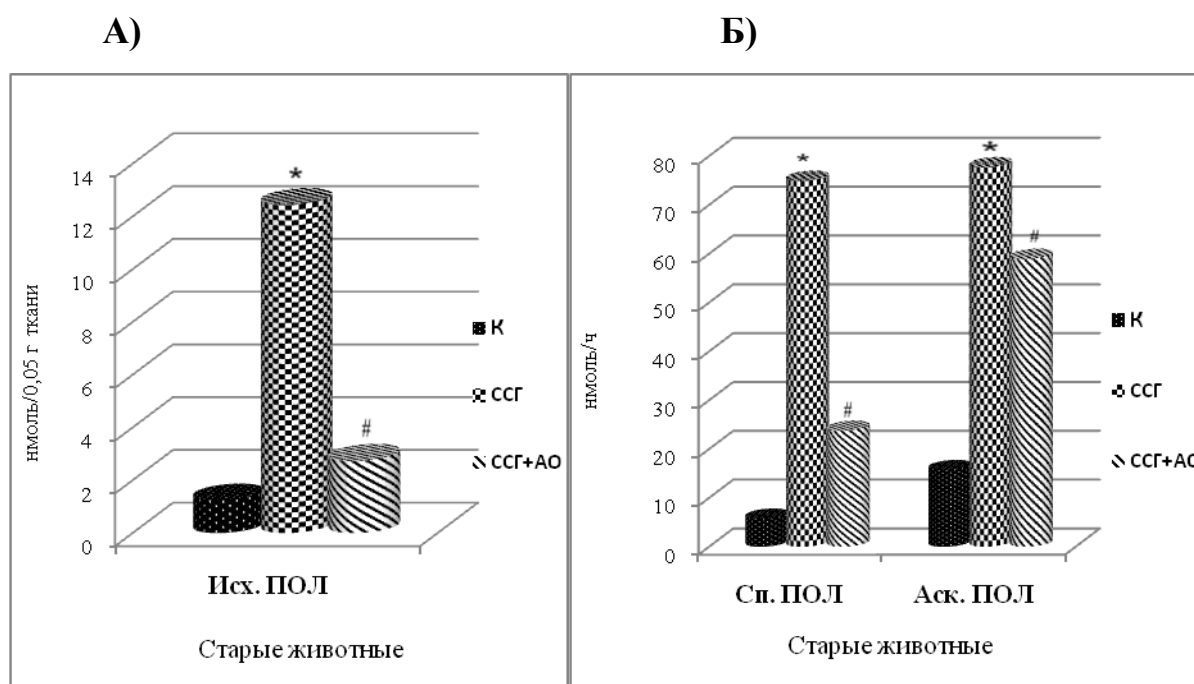
Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	1,22±0,325	5,709±0,723	15,68±0,303	0,15±0,045
ССГ	12,43±0,433***	74,91±0,814***	77,7±0,741***	0,04±0,027*
ССГ+АО	2,73±0,439 <sup>◊◊#</sup>	23,75±0,436 <sup>◊◊◊##</sup>	58,95±0,259 <sup>◊◊◊##</sup>	0,05±0,033 <sup>◊#</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◊</sup> $p < 0,05$ , <sup>◊◊</sup> $p < 0,01$  и <sup>◊◊◊</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>◊#</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

В ткани лимфатических узлов старых животных (подгруппа ССГ+АО) в ходе эксперимента зафиксировано снижение уровня окислительной модификации белков на 67% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с группой старых интактных животных.

Обращает на себя внимание тот факт, что сочетанное введение антиоксидантов снижает показатели пероксидации липидов в сравнении с

подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ), но в сравнении с интактными животными уровень исходного ПОЛ ( $P < 0,05$ ), скорости спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ не достигают контрольных значений ( $P < 0,001$ ). По всей вероятности, полученные результаты исследований свидетельствуют об истощении антиоксидантной системы ткани самих паховых лимфатических узлов старых животных.

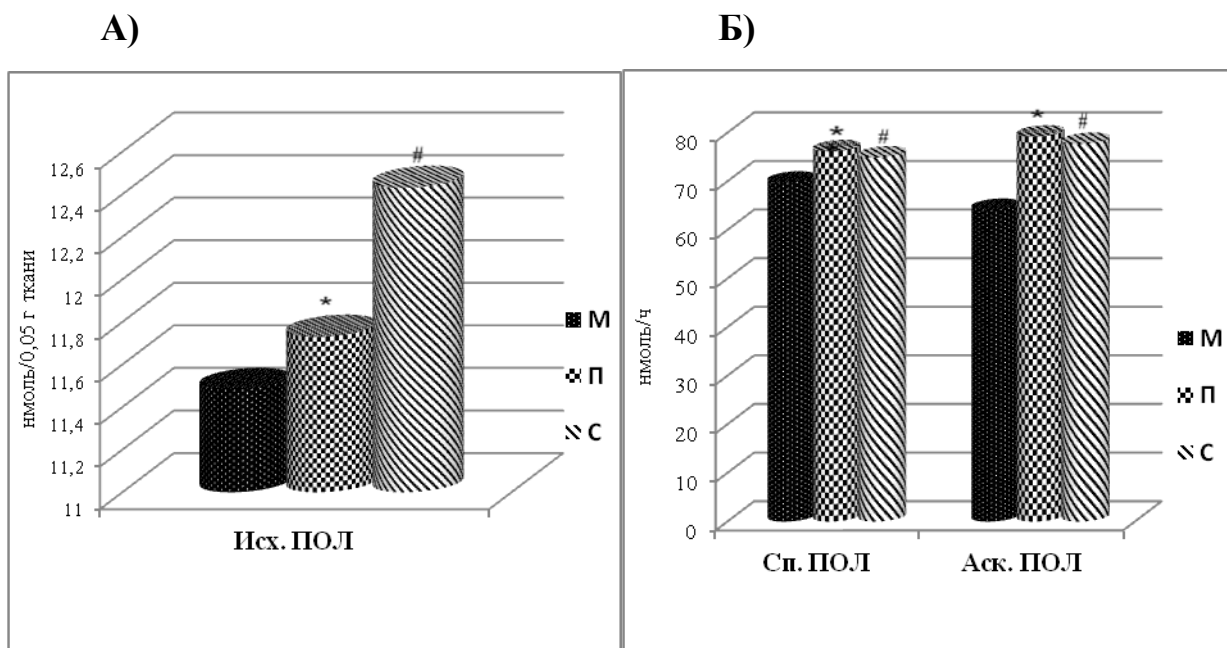


**Рис. 97 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани паховых лимфатических узлов старых животных при различных функциональных состояниях организма**

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

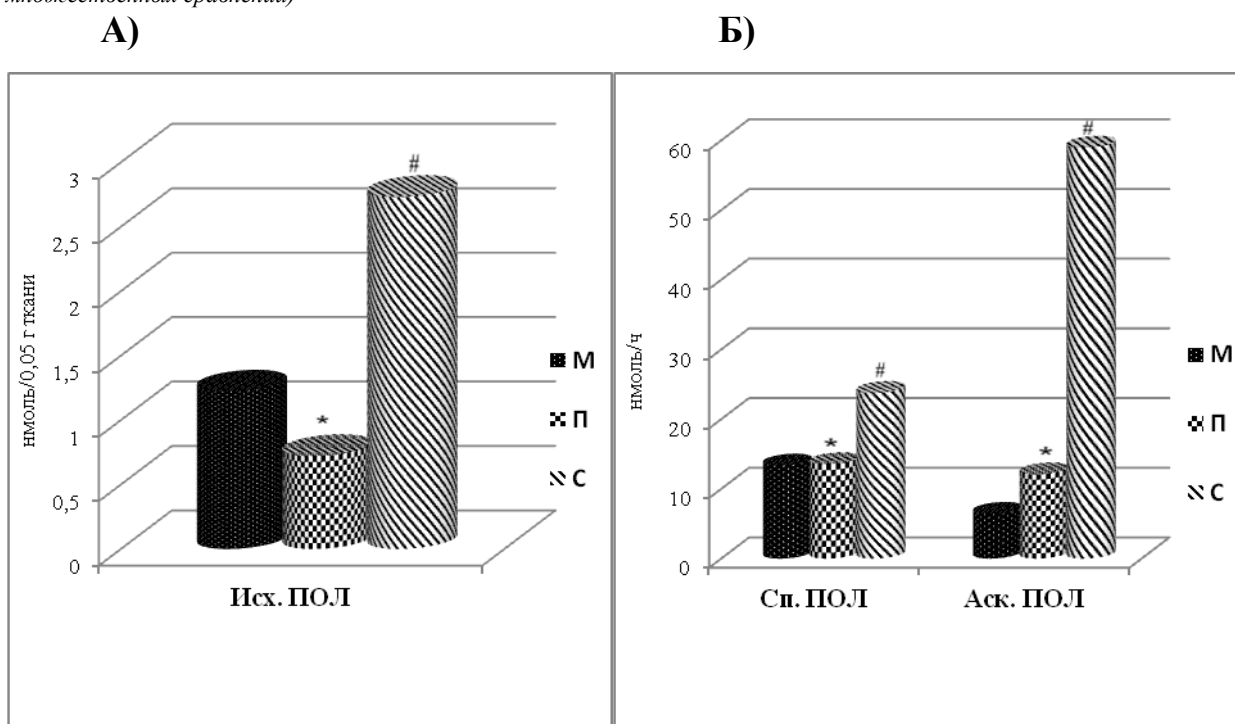
Сравнивая возрастные особенности свободнорадикального гомеостаза лимфатических узлов крыс у интактных животных, обращает на себя внимание тот факт, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой выше у молодых животных, достигая уровня  $7,89 \pm 0,382$  нмоль/0,05 г ткани ( $P < 0,05$ ). Значительно ниже этот показатель у половозрелых крыс ( $2,49 \pm 0,293$  нмоль/0,05 г ткани,  $P < 0,05$ ) и старых животных ( $1,22 \pm 0,325$  нмоль/0,05 г ткани,  $P < 0,05$ ). Отмечается усиление скорости аскорбатзависимого ПОЛ ( $P < 0,05$ ) у молодых крыс по сравнению с

половозрелыми: с  $5,89 \pm 0,697$  до  $16,44 \pm 0,945$  нмоль/ч, а также повышение уровня спонтанного ПОЛ: с  $11,54 \pm 0,662$  до  $11,95 \pm 0,783$  нмоль/ч.



**Рис. 98 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани паховых лимфоузлов крыс подгруппы ССГ**

Примечание: М – молодые (неполовозрелые) животные, П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # – значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



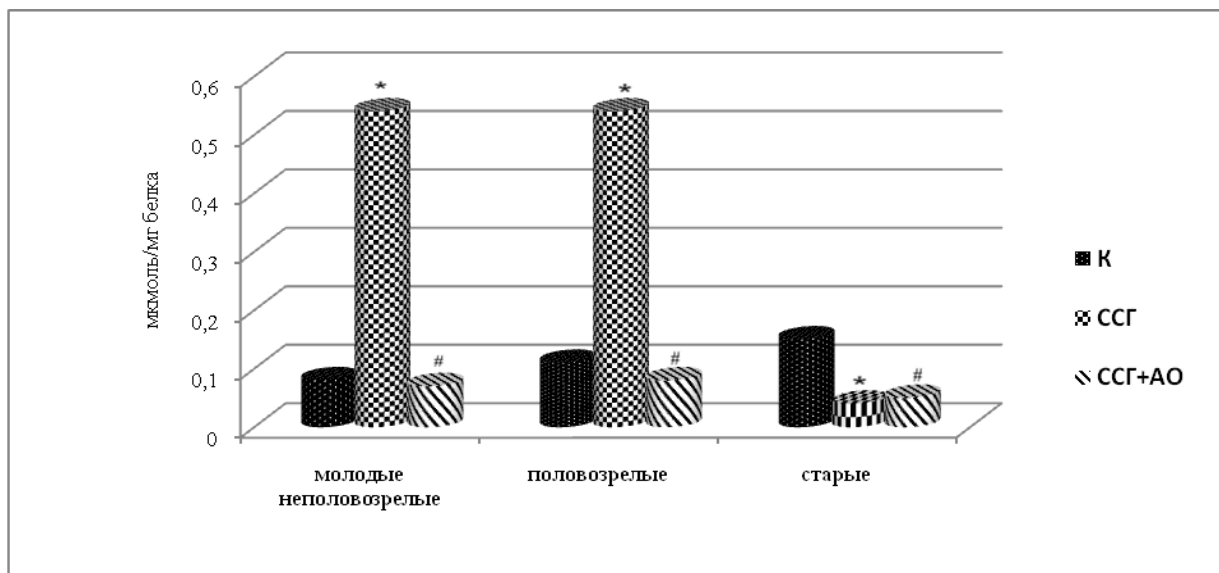
**Рис. 99 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани паховых лимфоузлов крыс подгруппы ССГ+АО**

Примечание: М – молодые (неполовозрелые) животные, П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # – значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Заметно ниже уровень липидной пероксидации ткани лимфатических узлов старых интактных животных в сравнении с группой молодых (неполовозрелых) крыс.

Так, у старых животных скорость спонтанного ПОЛ ниже на 52%, а содержание исходного ПОЛ меньше на 84,5% ( $P < 0,05$ ).

Показатель окислительной модификации белков (рис. 100) также выше в паховых лимфатических узлах старых крыс ( $0,15 \pm 0,045$  мкмоль/мг белка), и существенно ниже в паховых лимфоузлах молодых интактных животных (на 47%,  $P < 0,05$ ).



**Рис. 100** Возрастные особенности изменения уровня окислительной модификации белков в ткани паховых лимфатических узлов крыс при различных функциональных состояниях организма

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

При хроническом воздействии серосодержащего природного газа АГКМ интенсивность свободно-радикальных процессов в ткани паховых лимфатических узлов (рис. 98 А, Б) свидетельствует о возрастных особенностях функционирования иммунной системы в ответ на действие токсиканта.

При сравнении показателей пероксидации липидов установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, с

возрастом увеличивается и способствует развитию окислительного стресса у животных, о чем свидетельствует повышение уровня исходного ПОЛ, рост скоростей аскорбатзависимого ПОЛ и спонтанного ПОЛ у старых крыс в сравнении с молодыми животными ( $P < 0,05$ ). Зарегистрированное повышение исходного ПОЛ на 8%, усиление скорости спонтанного и индуцированного ПОЛ на 7,5% и на 21% соответственно, усугубляет токсический эффект сероводорода на ткань паховых лимфоузлов старых крыс.

Значительно более низкий уровень исходного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) в условиях гипоксии зафиксирован у молодых животных ( $11,48 \pm 0,820$  нмоль/0,05 г ткани), однако отмечен рост скорости спонтанного ПОЛ (до  $76,18 \pm 0,840$  нмоль/ч,  $P < 0,05$ ) и индуцированного ПОЛ (до  $79,2 \pm 0,759$  нмоль/ч,  $P < 0,05$ ) у половозрелых крыс, в сравнении с молодыми животными.

Уровень окислительной модификации белков выше в ткани паховых лимфоузлов молодых и половозрелых животных, в отличие от старых крыс, у которых этот показатель значимо ниже ( $0,04 \pm 0,027$  мкмоль/мг белка,  $P < 0,05$ ) (рис. 100).

Полученные данные свидетельствуют о токсическом действии сероводородсодержащего природного газа на ткань паховых лимфоузлов и развитии оксидативного стресса во всех возрастных группах животных.

Воздействие комплексом препаратов (тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата) на фоне токсического стресса вызвало снижение уровня всех показателей свободно-радикальных процессов в ткани паховых лимфоузлов животных всех возрастных групп (рис. 99 (А, Б); 100).

Более выраженный корректирующий эффект совместного воздействия антиоксидантов был зарегистрирован у молодых ( $P < 0,01$ ) и половозрелых животных ( $P < 0,05$ ).

## **6.3 Селезенка**

### **6.3.1 Молодые (неполовозрелые) животные**

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в ткани селезенки интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 37.

Хроническая ингаляция сероводородсодержащего природного газа АГКМ привела к выраженным изменениям уровня свободно-радикальных процессов этой возрастной группы. В ткани селезенки животных выявлено повышение окислительной деструкции белков и увеличение всех изучаемых показателей ПОЛ (табл. 37).

**Таблица 37**

Уровень свободно-радикальных процессов в селезенке молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,25±0,399	17,47±0,605	23,62±0,204	0,54±0,057
ССГ	8,14±0,660***	65,0±0,344***	73,04±0,670***	0,73±0,051**

*Примечание: \* p<0,05, \*\* p<0,01 и \*\*\* p<0,001 в сравнении с контролем; \* - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Так, в сравнении с контрольными значениями, установлено, что при хроническом стрессе резко возрастает уровень исходного ПОЛ (на 150,5%,  $P<0,001$ ). Увеличивается скорость спонтанного ПОЛ (в 3,7 раза,  $P<0,001$ ) и скорость аскорбатзависимого ПОЛ (в 3 раза,  $P<0,001$ ). Зафиксировано повышение показателя окислительной модификации белков на 35% ( $P<0,01$ ).

Анализ полученных результатов свидетельствует об интенсификации свободно-радикальных процессов, индуцированных действием сероводородсодержащим газом на ткань селезенки молодых крыс.

В условиях ингаляции серосодержащего газа в селезенке рассматриваемой возрастной группы (табл. 38) на фоне введения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата произошли значимые изменения уровня свободно-радикальных процессов, превышающие контрольные показатели.

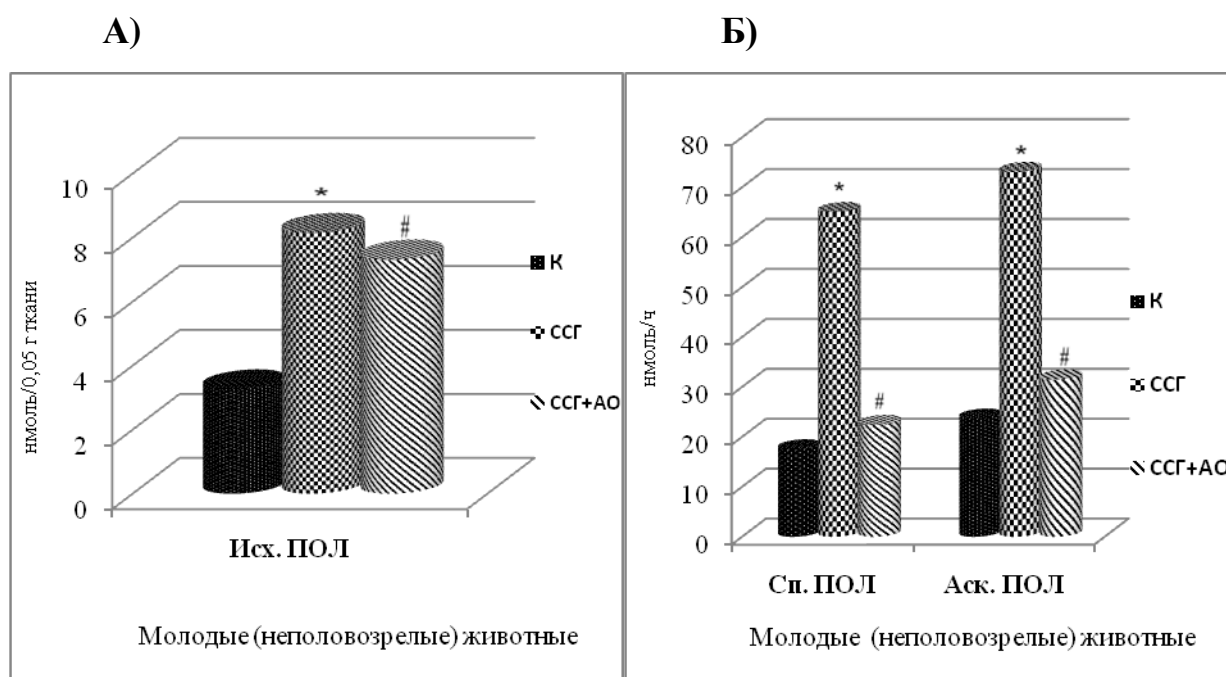
Так, введение антиоксидантов (таб. 38) стрессированным животным вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 10% ( $P < 0,05$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 66% и аскорбатзависимого ПОЛ на 57%, в сравнении с группой ССГ ( $P < 0,001$ ).

**Таблица 38**

Уровень свободно-радикальных процессов в селезенке молодых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,25±0,399	17,47±0,605	23,62±0,204	0,54±0,057
ССГ	8,14±0,660 <sup>***</sup>	65,0±0,344 <sup>***</sup>	73,04±0,670 <sup>***</sup>	0,73±0,051 <sup>**</sup>
ССГ + АО	7,31±0,501 <sup>◊###</sup>	22,37±0,710 <sup>◊◊◊###</sup>	31,49±0,630 <sup>◊◊◊###</sup>	0,03±0,013 <sup>◊◊◊###</sup>

Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; ◊ $p < 0,05$ , ◊◊ $p < 0,01$  и ◊◊◊ $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*◊# - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



**Рис. 101 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани селезенки молодых крыс при различных функциональных состояниях организма**

Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



Уровень окислительной модификации белков снижается на 96% в сравнении с животными подгруппы ССГ ( $P < 0,001$ ).

Анализируя показатели пероксидации липидов в группе молодых животных, получавших ССГ+АО, необходимо отметить, что в сравнении с контролем они имеют тенденцию к снижению, но не достигают уровня контрольных значений (рис. 101 А, Б).

Это связано, возможно, с истощением компенсаторных возможностей ткани селезенки в этой возрастной группе животных.

В то же время, комбинирование препаратов в эксперименте вызвало уменьшение уровня ОМБ, по сравнению с контролем на 94% ( $P < 0,001$ ), что говорит о наличии корректирующего эффекта антиоксидантов на белковый обмен ткани этого органа у молодых крыс.

### 6.3.2 Половозрелые животные

Результаты исследования ТБК – реактивных продуктов в ткани селезенки половозрелых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 39.

**Таблица 39**

Уровень свободно-радикальных процессов в селезенке половозрелых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,71±0,351	24,40±0,644	20,39±0,597	0,14±0,036
ССГ	10,02±0,598***	73,30±0,566***	62,41±0,908***	0,76±0,081***

*Примечание: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

В условиях гипоксии зарегистрированы значимые изменения уровня свободно-радикальных процессов в ткани селезенки крыс этой возрастной группы (табл. 39), с характерным высоким содержанием исходного ПОЛ (на 170 %,  $P < 0,001$ ), а так же увеличением скорости спонтанного ПОЛ на 200%

( $P < 0,001$ ), а аскорбатзависимого ПОЛ - на 206% ( $P < 0,001$ ) в сравнении с контрольными значениями.

Кроме того, о развитии окислительного стресса в ткани селезенки половозрелых животных при воздействии ССГ свидетельствует зафиксированный существенный рост окислительной модификации белков в 5 раз в сравнении с контролем ( $P < 0,001$ ).

На фоне токсического стресса, вызванного природным газом (табл. 40), введение комплекса антиоксидантов вызвало снижение содержания исходного ПОЛ на 63% ( $P < 0,001$ ), существенное замедление скорости спонтанного ПОЛ на 85% и аскорбатзависимого ПОЛ на 75%, в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ).

**Таблица 40**

Уровень свободно-радикальных процессов в селезенке половозрелых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

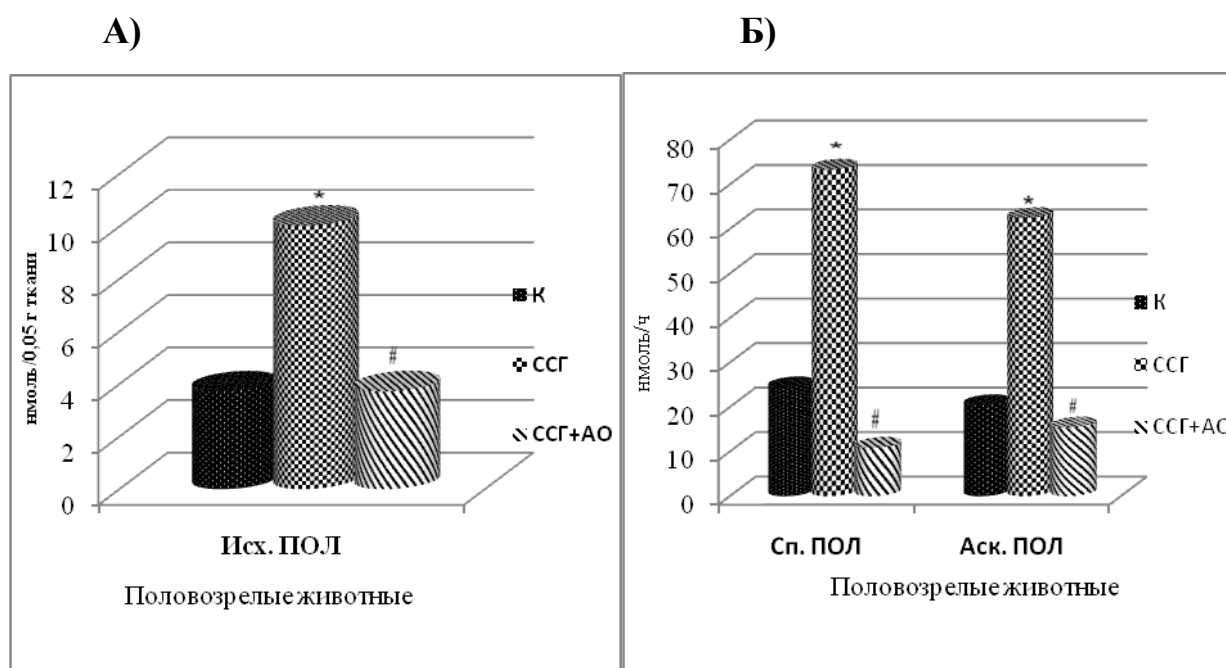
Группа (n=10)	Половозрелые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,71±0,351	24,40±0,644	20,39±0,597	0,14±0,036
ССГ	10,02±0,598 <sup>***</sup>	73,30±0,566 <sup>***</sup>	62,41±0,908 <sup>***</sup>	0,76±0,081 <sup>***</sup>
ССГ+АО	3,72±0,655 <sup>◊◊◊#</sup>	10,85±0,625 <sup>◊◊◊##</sup>	15,40±0,801 <sup>◊◊◊##</sup>	0,08±0,013 <sup>◊#</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; ◊ $p < 0,05$ , ◊◊ $p < 0,01$  и ◊◊◊ $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*◊# - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Уровень окислительной модификации белков снизился на 91% в сравнении с ОМБ селезенки животных, подвергшихся воздействию ССГ ( $P < 0,001$ ). В сравнении с контрольными значениями показатель ОМБ оказался ниже на 43% ( $P < 0,05$ ), а скорость спонтанного и аскорбатзависимого ПОЛ (рис. 102 А, Б) замедлилась на 55,5% ( $P < 0,001$ ) и на 24,5% ( $P < 0,01$ ) соответственно.

Комплексное введение препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата на фоне токсического действия природного газа проявило характерное

антиоксидантное действие снизив уровень свободно-радикальных процессов как в сравнении с группой, получавшей ССГ ( $P < 0,001$ ), так и в сравнении с контролем.



**Рис. 102 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани селезенки половозрелых крыс при различных функциональных состояниях организма**

Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

### 6.3.3 Старые животные

Полученные результаты определения перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в ткани селезенки старых интактных животных и крыс, подвергшихся воздействию ССГ, представлены в таблице 41.

**Таблица 41**

Уровень свободно-радикальных процессов в селезенке старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,99±0,502	24,42±0,815	40,27±0,719	0,69±0,0297
ССГ	17,18±0,931***	118,32±0,295***	125,34±0,755***	0,75±0,057***

Примечание: \*  $p < 0,05$ , \*\*  $p < 0,01$  и \*\*\*  $p < 0,001$  в сравнении с контролем; \* - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

В условиях стресса в ткани селезенки старых животных зарегистрировано повышение всех показателей ПОЛ (табл. 41).

Так, в сравнении с контрольными значениями, установлено, что содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой при хроническом воздействии ССГ, способствует увеличению уровня исходного ПОЛ в 4 раза ( $P < 0,001$ ). Отмечено повышение в 5 раз ( $P < 0,001$ ) скорости спонтанного ПОЛ и усилении аскорбатзависимого ПОЛ в 3 раза ( $P < 0,001$ ) в сравнении с контролем. Данные изменения происходили на фоне значительного увеличения уровня окислительной модификации белков на 9% ( $P < 0,001$ ) в сравнении с теми же показателями у интактных животных.

Полученные результаты исследования показателей свободно-радикальных процессов при действии экзотоксиканта свидетельствуют о развитии оксидативного стресса в ткани селезенки старых животных.

Совместное действие  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина на фоне ингаляции природного газа способствовало достоверному снижению интенсивности свободно-радикальных процессов в селезенке рассматриваемой возрастной группы (табл. 42).

**Таблица 42**

Уровень свободно-радикальных процессов в селезенке старых крыс, подвергшихся хроническому стрессу на фоне введения комплекса антиоксидантов ( $M \pm m$ )

Группа (n=10)	Старые животные			
	Исходное ПОЛ нмоль/0,05 г ткани	Спонтанное ПОЛ нмоль/ч	Аскорбатзависимое ПОЛ нмоль/ч	ОМБ мкмоль/мг белка
К	3,99±0,502	24,42±0,815	40,27±0,719	0,69±0,0297
ССГ	17,18±0,931***	118,32±0,295***	125,34±0,755***	0,75±0,057***
ССГ+АО	3,79±0,602 <sup>◊◊#</sup>	13,25±0,284 <sup>◊◊◊##</sup>	113,01±0,565 <sup>◊◊◊##</sup>	0,07±0,025 <sup>◊◊◊#</sup>

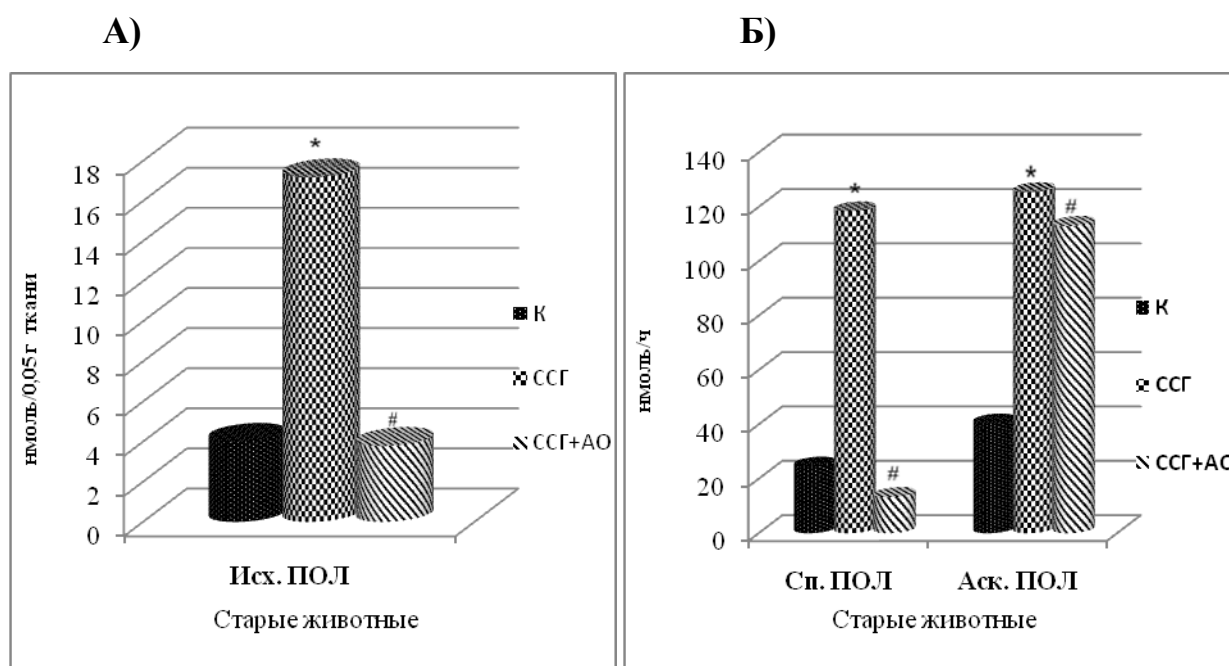
*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◊</sup> $p < 0,05$ , <sup>◊◊</sup> $p < 0,01$  и <sup>◊◊◊</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; \*<sup>◊#</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Так, в эксперименте комплекс антиоксидантов вызвал снижение содержания исходного ПОЛ (на 78%,  $P < 0,01$ ), замедление скорости

спонтанного ПОЛ на 89% и аскорбатзависимого ПОЛ на 10% (рис. 103 А, Б), в сравнении с подгруппой ССГ ( $P < 0,001$ ).

Уровень окислительной модификации белков снизился на 91% в сравнении с животными, подвергшихся воздействию ССГ ( $P < 0,001$ ).

Анализируя показатели пероксидации липидов - исходный ПОЛ, спонтанный ПОЛ, а так же уровень ОМБ в группе животных, получавших ССГ+АО, необходимо отметить, что в сравнении с контролем наблюдается снижение содержания исходного ПОЛ на 5% ( $P < 0,05$ ), замедление скорости спонтанного ПОЛ на 46% ( $P < 0,001$ ), понижение уровня окислительной модификации белков на 90% ( $P < 0,05$ ). Зарегистрировано, что скорость аскорбатзависимого ПОЛ так же снижается ( $P < 0,001$ ), хотя и не достигает контрольных значений, что связано возможно с истощением компенсаторных возможностей ткани селезенки в этой возрастной группе животных.



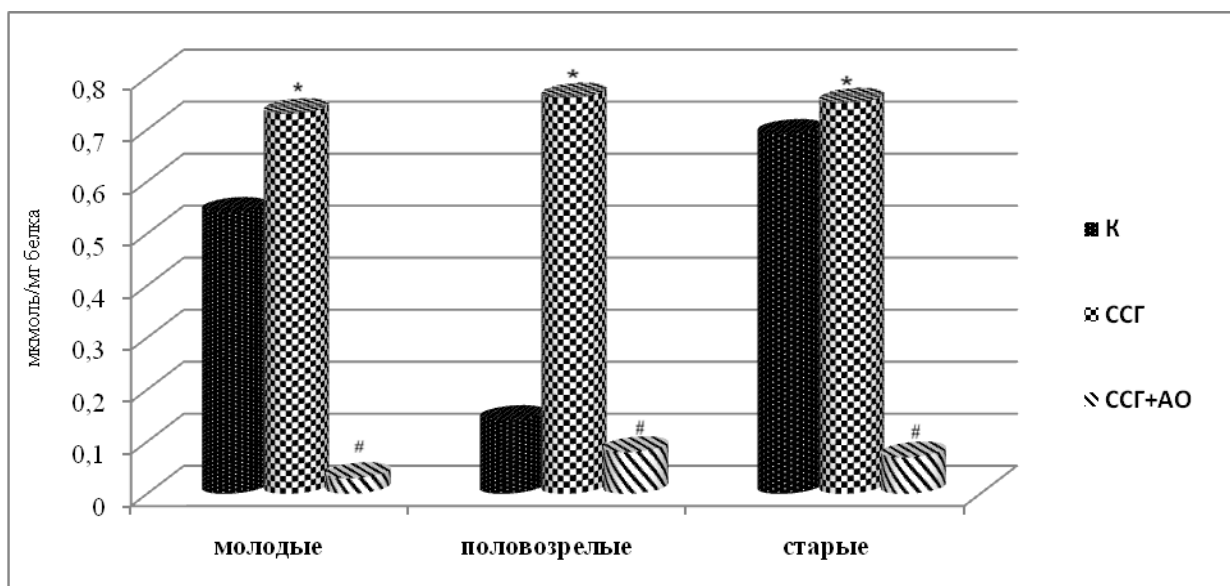
**Рис. 103 (А, Б) Особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани селезенки старых крыс при различных функциональных состояниях организма**

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Сравнивая возрастные особенности ткани селезенки у интактных животных, обращает на себя внимание тот факт, что содержание продуктов,

реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, выше у старых крыс, достигая уровня  $3,99 \pm 0,502$  нмоль/0,05 г ткани ( $P < 0,05$ ), значительно ниже у молодых животных  $3,25 \pm 0,399$  нмоль/0,05 г ткани ( $P < 0,05$ ). Отмечается усиление скорости аскорбатзависимого ПОЛ ( $P < 0,05$ ) у старых животных по сравнению с половозрелыми: с  $20,39 \pm 0,597$  до  $40,27 \pm 0,719$  нмоль/ч. Зарегистрировано повышение уровня спонтанного ПОЛ: с  $23,62 \pm 0,204$  до  $24,42 \pm 0,815$  нмоль/ч, в сравнении с молодыми животными ( $P < 0,05$ ).

Наиболее высоким оказался уровень окислительной модификации белков в селезенке старых крыс  $0,69 \pm 0,029$  мкмоль/мг белка ( $P < 0,05$ ), хотя значительно ниже он зарегистрирован в ткани селезенки группы половозрелых интактных животных (рис. 104) на 80% ( $P < 0,001$ ).

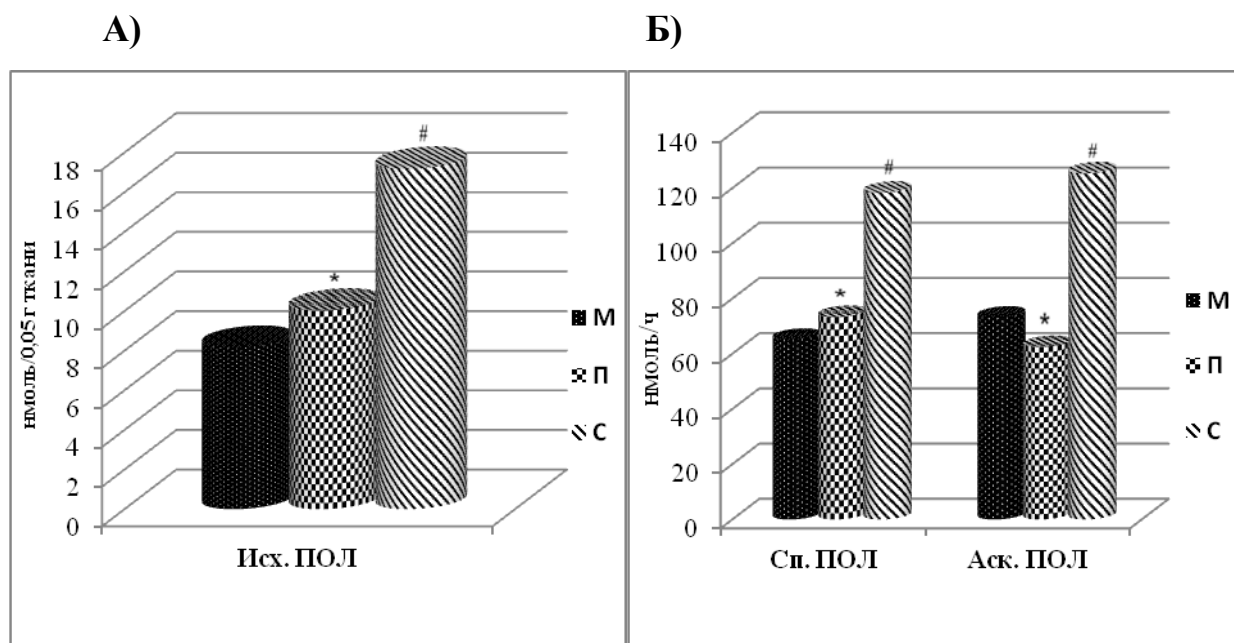


**Рис. 104** Возрастные особенности изменения уровня окислительной модификации белков в ткани селезенке крыс при различных функциональных состояниях организма

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Полученные экспериментальные данные показали, что при хроническом воздействии серосодержащим природным газом АГКМ интенсивность свободно-радикальных процессов и уровень антиоксидантной защиты в ткани селезенки (рис. 105 А, Б) зависит от возраста животных и от

особенностей функционирования данного органа в ответ на действие токсиканта.



**Рис. 105 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани селезенки крыс подгруппы ССГ**

Примечание: М – молодые (неполовозрелые) животные, П – половозрелые животные; С – старые животные; \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

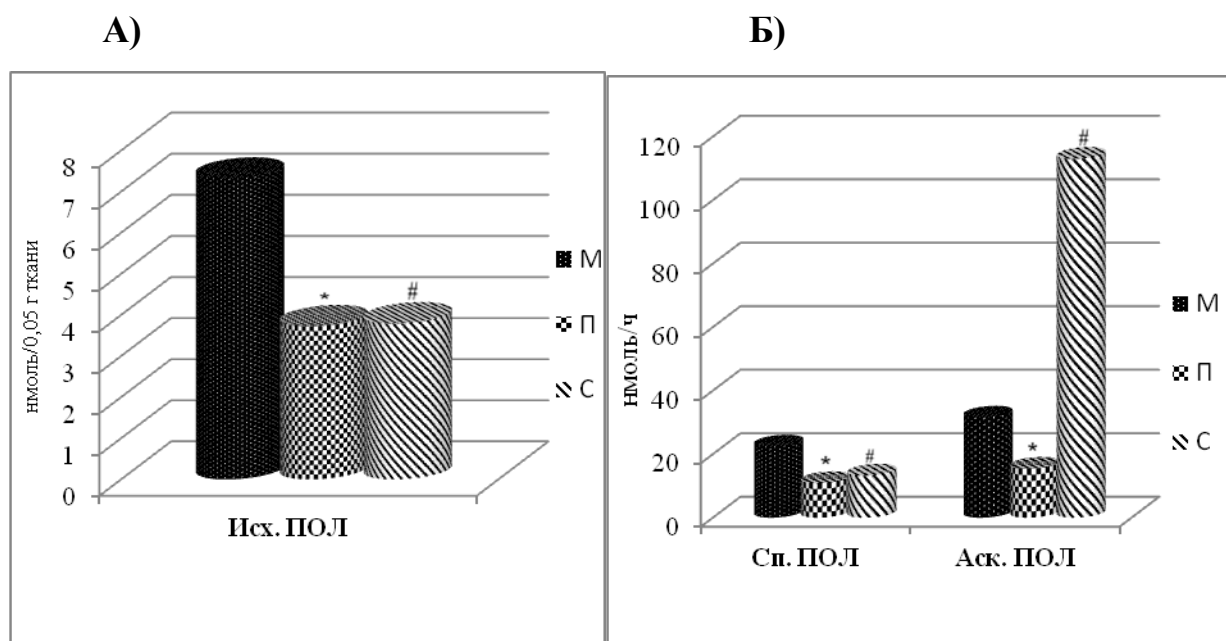
Согласно полученным данным, содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, с возрастом увеличивается и способствует развитию окислительного стресса, о чем свидетельствует рост всех показателей исходного ПОЛ, аскорбатзависимого ПОЛ и спонтанного ПОЛ у старых животных, как в сравнении с молодыми, так и с половозрелыми животными ( $P < 0,001$ ). Зарегистрированные показатели повышения исходного ПОЛ до  $17,18 \pm 0,931$  нмоль/0,05г ткани, усиление скорости спонтанного и индуцированного ПОЛ до  $118,32 \pm 0,295$  нмоль/ч и до  $125,34 \pm 0,755$  нмоль/ч соответственно, усугубляют токсический эффект сероводорода в селезенке старых крыс.

Более низкий уровень исходного ПОЛ ( $P < 0,001$ ) в условиях гипоксии, вызванной природным газом, зафиксирован у молодых животных  $8,14 \pm 0,660$  нмоль/0,05г ткани.

Сравнивая результаты исследования у молодых и половозрелых крыс в условиях действия токсического стресса, можно отметить рост скорости спонтанного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) у половозрелых животных на 13%, но замедление индуцированного ПОЛ ( $P < 0,05$ ) на 15%, что возможно связано с более выраженными компенсаторными возможностями ткани селезенки половозрелых крыс (рис. 105 А, Б).

Уровень окислительной модификации белков (рис. 104) повышается во всех возрастных группах экспериментальных животных ( $P < 0,001$ ), что свидетельствует не только об эффекте токсического действия сероводородсодержащего природного газа на ткань, но и о его способности развивать оксидативный стресс в органе независимо от возраста крыс.

Воздействие тималина в сочетании с  $\alpha$ -токоферолом ацетатом на фоне хронической ингаляции газа проявило выраженные антиоксидантные и иммуномодулирующие свойства, вызвав снижение уровня всех изучаемых показателей свободно-радикальных процессов в селезенке крыс трех возрастных групп (рис. 104, 106 А, Б).



**Рис. 106 (А, Б) Возрастные особенности изменения показателей пероксидации липидов в ткани селезенки крыс подгруппы ССГ+АО**

Примечание: М – молодые животные, П – половозрелые животные; С – старые животные;  
\* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между группами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



Более выраженный корригирующий эффект комплексного введения препаратов был зарегистрирован у половозрелых крыс в сравнении с контрольными значениями ( $P < 0,001$ ) групп молодых и старых животных. Скорость аскорбатзависимого ПОЛ снижается ( $P < 0,001$ ), как у молодых, так и у старых крыс, но не достигает контрольных значений (рис. 106 А, Б). Возможно, это связано с истощением компенсаторных возможностей ткани селезенки в этих возрастных группах.

Таким образом, полученные результаты о воздействии сероводородсодержащего природного газа АГКМ на свободно-радикальные процессы разных органов иммунной системы крыс свидетельствуют о возрастной специфике происходящих изменений в исследованных тканях, что, вероятно, способствует внутрисклеточным преобразованиям, которые запускают формирование адаптационных механизмов не только тимуса, лимфатических узлов и селезенки в условиях хронического стресса, но и всего организма в целом.

Комбинированное введение лекарственных средств  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина на фоне хронического действия газа проявило антиоксидантные свойства, вызвав снижение уровня свободно-радикальных процессов в изучаемых органах иммунной системы всех возрастных групп.

## **Глава 7. Постнатальный онтогенез органов иммунной системы в норме, в условиях хронической гипоксии, вызванной сероводородсодержащим природным газом и воздействии комплексом антиоксидантов на фоне стресса**

### **7.1 Возрастные особенности морфофункциональных преобразований тимуса белых крыс**

Вилочковая железа окружена соединительно-тканной капсулой и в большинстве случаев состоит из двух долей. В результате проведенного исследования в трёх случаях нами обнаружена трёхдолевая форма тимуса.

С момента рождения тимус располагается за грудиной в вентральном средостении, и его топография изменяется в процессе постнатального онтогенеза. У крыс в возрасте до трёх недель каудальный полюс вилочковой железы находится на уровне третьего межреберья. К 6 месяцам каудальный полюс достигает своего дефинитивного положения, прикрывая ушко правого предсердия, что согласуется с литературными данными (Хаитов Р.М., 2001; Ярилин А.А., 2003, 2010; Забродин В.А., Юрчинский В.Я., 2008, 2009; Castro C.Y. et al. 2005).

Краниальный полюс тимуса у молодых крыс выступает над уровнем яремной вырезки грудины, что в более позднем возрасте наблюдается достаточно редко. К латеральным поверхностям органа прилежат внутренние яремные вены, париетальная плевра, лимфатические узлы и крупное скопление жировой клетчатки, объём которой нарастает к периоду половозрелости, достигая максимума у старых крыс, что подтверждается литературными данными В.Я. Юрчинского с соавторами (2008), В. А. Забродина с соавторами (2011), Baron R.L. et al. (1982).

У молодых крыс относительная масса тимуса составила  $0,24 \pm 0,017$  мг, в группе половозрелых животных она увеличивается до  $0,27 \pm 0,052$  мг и в дальнейшем, у старых крыс, вновь снижается до  $0,24 \pm 0,023$  мг (таблица 16).

При световой микроскопии тимуса выявляется его дольчатое строение. Размеры долек тимуса достигают максимума у молодых крыс и уменьшаются к периоду наступления половой зрелости. Дольки железы имеют полигональную форму, разделяются прослойками соединительной ткани, пучки которой ответвляются от тонкой капсулы органа и проникают на разную глубину внутрь органа. Отдельные дольки имеют поперечный размер от 0,2 до 5 мкм, нередко сливаются друг с другом, образуя древовидные ветвления. В дольках отчетливо различаются наружное более темное корковое вещество и центральное более светлое мозговое вещество, при этом граница между корковым и мозговым веществом достаточно хорошо выражена уже у неполовозрелых животных. При изучении морфологической картины тимуса вне зависимости от возраста определяются четко выраженные 4 зоны.

Первая зона — это наружный подкапсулярный слой. В ней в 1—3 слоя располагаются большие лимфоциты и бластные клетки. Цитоплазма лимфоцитов представлена в виде узкого ободка, равномерно распределенного вокруг крупного и темного ядра. Эпителиальные клетки имеют типичную звездчатую или веретенообразную форму, образуя широко петлистую сеть, вокруг кровеносных сосудов, где обнаруживаются единичные макрофаги.

Вторая зона — внутренний кортикальный слой, или собственно корковое вещество тимуса, представлено несколькими слоями средних и малых лимфоцитов, содержание которых колеблется от 60 до 85%. Лимфоидные клетки наружной части корковой зоны расположены в 3-4 слоя, диаметр клеток — около 7 мкм. В более глубоких отделах этой зоны встречаются макрофаги. Субкапсулярно можно видеть делящиеся клетки, а также лимфобласты, внутри коркового вещества находятся главным образом потомки лимфобластов — неделящиеся малые тимусные лимфоциты, расположенные вблизи дендритных корковых эпителиальных клеток. Корковые эпителиальные клетки имеют звездчатую форму за счет длинных и

тонких цитоплазматических отростков. Последние соединяются друг с другом с помощью десмосом и формируют «сеточку», где располагаются тимоциты коркового вещества. Ядро тимоцитов овальное с пылевидным диффузно расположенным хроматином во всех возрастных группах. Цитоплазма занимает большую часть клеток данного слоя и светлее, чем в подкапсулярной зоне (рис. 107).

Третья зона — мозговое вещество, которое постепенно расширяется после рождения крысы. У группы молодых крыс площадь мозгового слоя преобладает над площадью коркового, а у старых крыс, наоборот, площадь этой зоны становится значительно меньше. К моменту полового созревания отмечается некоторое уменьшение числа клеточных рядов, что связано с дифференцировкой клеточных элементов, а так же с тем, что мозговое вещество является местом выхода Т-лимфоцитов из органа через вены в кровотоки (рис. 108). Эпителиально-ретикулярные клетки составляют 5-20%. Количество лимфоидных клеток в мозговом слое меньше, чем в корковом веществе, и составляет 30-40%. Наблюдаемые многочисленные лимфоциты имеют средние размеры во всех возрастных группах. При этом цитоплазма этих клеток содержит глыбки хроматофильного вещества, сконцентрированного около ядра. Площадь ядер лимфоцитов этой зоны в среднем у молодых крыс составляет  $247,90 \pm 1,26$  мкм<sup>2</sup>, у половозрелых -  $215,45 \pm 0,93$  мкм<sup>2</sup>, у старых животных  $171,97 \pm 1,15$  мкм<sup>2</sup>. При сравнении возрастных особенностей изменения площади ядер лимфоцитов крыс у интактных животных обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер у неполовозрелых животных на 30,6% больше площади ядер старых крыс и на 13% выше, чем у половозрелых животных ( $P < 0,05$ ). В то же время, площадь ядер половозрелых крыс существенно превышает этот же показатель у старых животных на 20% ( $P < 0,05$ ). Это свидетельствует о возрастных особенностях интенсивности функционирования ткани тимуса. Эпителиальные клетки этого слоя формируют эпителиальные тяжи, фолликулоподобные структуры, расположенные вокруг шарообразных

тимических телец. Эпителиальная сеть в отличие от таковой в корковом веществе становится широкоячеистой. Наблюдаются гипертрофированные клетки. Тимические тельца представлены концентрическими скоплениями продолговатых и веретенообразных клеток с большим ядром, цитоплазма их заполнена пылевидным хроматофильным веществом. Размер телец колеблется: у молодых крыс он составляет в среднем около 60 мкм, у половозрелых 300-320 мкм. У старых животных, на фоне возрастной инволюции тимуса, тельца отличаются большой вариабельностью размера от 80 до 250 мкм. Соединительнотканная строма тимуса у молодых крыс представлена как соединительнотканными, так и эпителиальными элементами. При этом ширина междольковых прослоек в ткани этой группы животных относительно стабильна. На этом этапе онтогенеза дольки тимуса имеют вид многоугольников. У половозрелых животных плотность стромы железы увеличивается. Этот процесс происходит на фоне увеличения ширины междольковых перегородок, что объясняется расширением междольковых соединительнотканых структур и началом интенсивного жирового перерождения органа. Отдельные участки коркового вещества оказываются заключенными внутри мозгового вещества в виде мелких округлых долек. Согласно литературным данным, (В. А. Забродин с соавторами, 2011), эти структуры называют «корковыми узелками». Эпителиоретикулоциты соединяются между собой, формируя сеть, в которой находятся лимфоциты. Гипертрофированные эпителиальные клетки с обширной цитоплазмой имеют вытянутое, часто неправильной формы ядро, по периферии которого сконцентрирован хроматин в виде небольших глыбок. Именно эти клетки образуют свободную сеть, густо заполненную лимфоцитами.

Корковый слой инволюирующего тимуса старых крыс заселен редкими лимфоцитами, ядро которых округлое, средних размеров и содержит небольшие глыбки хроматофильного вещества (рис. 109 А). В ткани железы у этой группы животных отмечается инфильтрация мозгового и коркового

вещества многочисленными жировыми вакуолями, интенсивно накапливающимися в междольковых перегородках. Наблюдается нарушение тесных соприкосновений между тимоцитами и эпителиальными клетками, в связи, с чем при микроскопии строма кажется рыхлой (рис. 109 Б).

Четвертая зона тимуса образована периваскулярной соединительной тканью, окружающей сосуды мозгового вещества. По данным В. А. Забродина с соавторами (2011), В.Я. Юрчинского с соавторами (2011) - это конечный путь для Т-лимфоцитов и, возможно, первое место встречи с чужеродными антигенами.

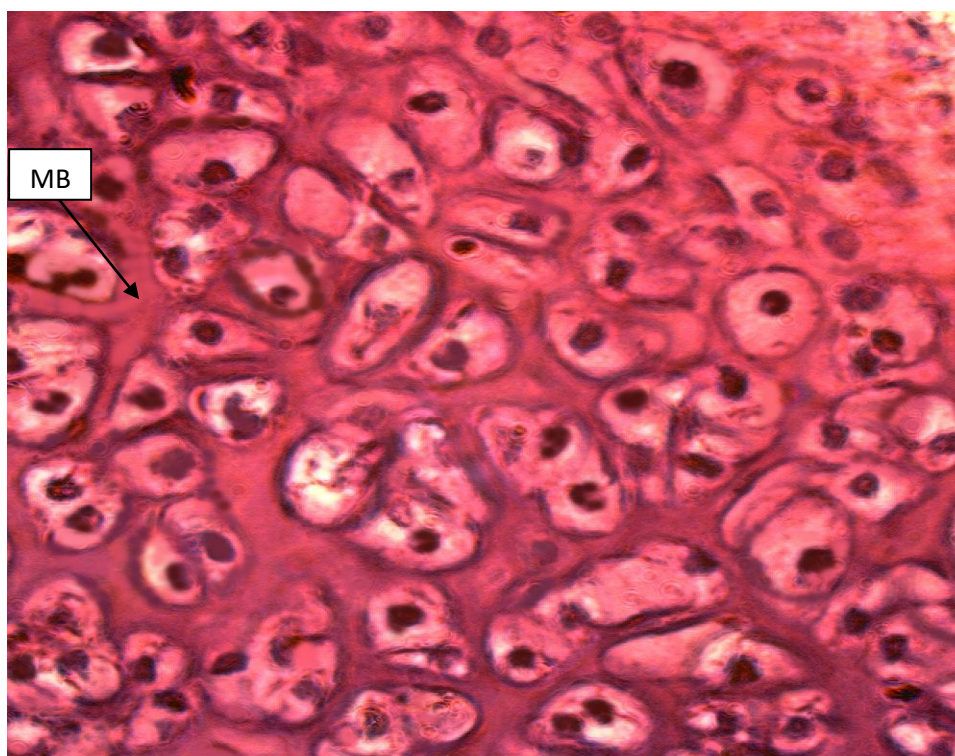
Эпителиальные клетки стромы тимуса у всех возрастных групп примыкают к кровеносным капиллярам, окружая их с помощью своих отростков, формируя тем самым узкие каналы для прохождения капилляров. При этом между эпителиальной мембраной и капиллярами находится периваскулярное пространство, заполненное тканевой жидкостью и содержащее лимфоциты, форменные элементы крови. В результате формируется гематотимусный барьер, между тканевыми структурами тимуса и кровеносным руслом органа. Согласно литературным данным В. А. Забродина с соавторами (2011), В.Я. Юрчинского с соавторами (2011) именно он препятствует проникновению антигенов, но, в то же время, является проницаемым для клеток лимфоидного ряда.

Считается, что такая избирательная проницаемость гематотимусного барьера связана с отсутствием окружающей кровеносные сосуды базальной мембраны.

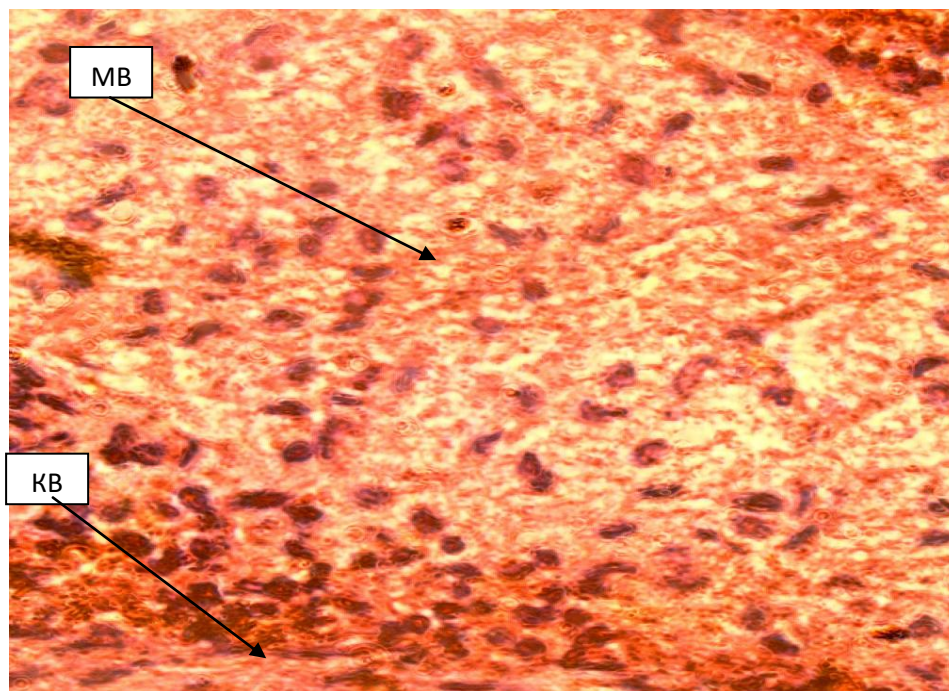
Установлено, что количество апоптозных клеток в контроле неодинаково: у молодых животных этот показатель составляет  $4,05 \pm 0,028$ , половозрелых –  $6,89 \pm 0,318$ , у старых крыс соответствует  $10,18 \pm 0,433$  (таблица 43).

Таким образом, тимус является открытой системой в связи с миграцией клеток в субкапсулярной зоне и мозговом веществе. Поэтому максимальные возрастные изменения происходят именно в этих компонентах долек. Рост

относительной массы тимуса продолжается до половой зрелости, а в дальнейшем снижается, так как развивается инволюция железы.



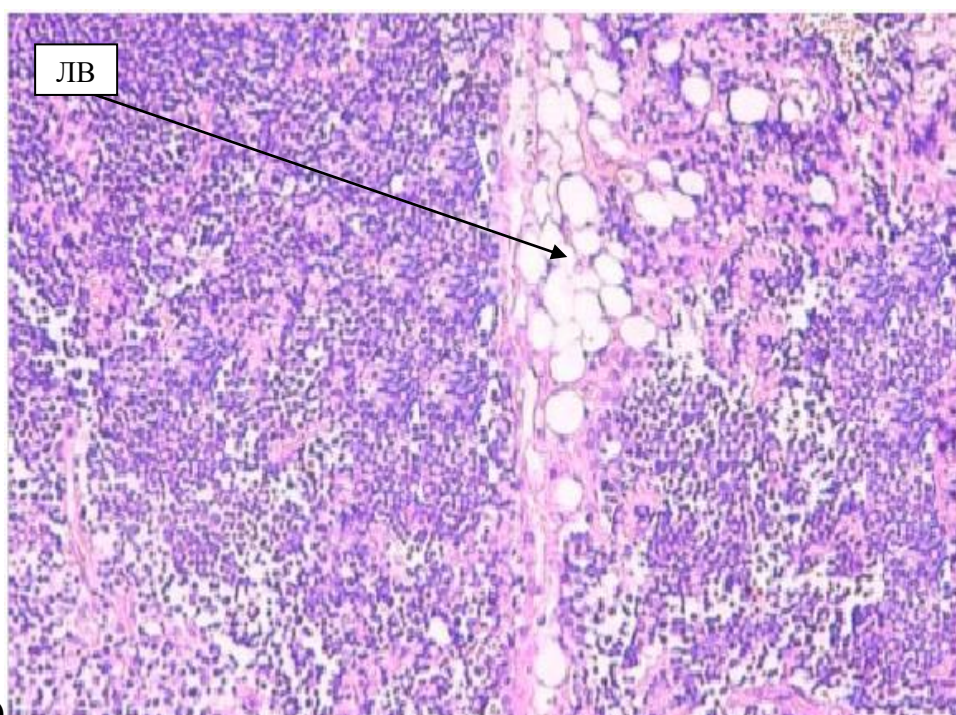
**Рис. 107 Ткань тимуса неполовозрелых крыс в контроле**  
(Окраска гематоклином-эозином. Ув. X400), (показано стрелкой: МВ-мозговое вещество)



**Рис. 108 Ткань тимуса половозрелых крыс в контроле**  
(Окраска гематоклином-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: КВ - корковое вещество, МВ - мозговое вещество)



А)



Б)

**Рис. 109 (А, Б) Ткань тимуса старых крыс в контроле**  
**(Окраска гематоксилином-эозином. А - Ув. X200, Б – Ув. X100).** (показано  
 стрелками: KB-корковое вещество, MB-мозговое вещество, ЛВ-липидные включения)

Степень изменения параметров тимуса, а также изменение его клеточного состава соответствует возрасту животных. Процесс развития и дифференцировки клеточных элементов тимуса в постнатальном онтогенезе направлен от наружных слоев к внутренним, от периферии к центру.



Количество апоптозных клеток в ткани тимуса в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные, %	Половозрелые животные, %	Старые животные, %
К	4,05±0,028	6,89±0,318 <sup>Δ</sup>	10,18±0,433 <sup>Δ</sup>
ССГ	7,64±0,645 <sup>**</sup>	8,13±0,216 <sup>**Δ</sup>	13,18±0,615 <sup>**ΔΔΔ</sup>
ССГ+АО	3,19±0,581 <sup>○○○#</sup>	5,95±0,746 <sup>○○○#ΔΔ</sup>	8,24±0,234 <sup>○○○#ΔΔΔ</sup>

*Примечание:* \* p<0,05, \*\* p<0,01 и \*\*\* p<0,001 в сравнении с контролем; <sup>◊</sup> p<0,05, <sup>○○</sup> p<0,01 и <sup>○○○</sup> p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # p<0,05, ## p<0,01 и ### p<0,001 в сравнении контрольной группы и подгруппой получавшей ССГ + АО; <sup>Δ</sup> p<0,05, <sup>ΔΔ</sup> p<0,01 и <sup>ΔΔΔ</sup> p<0,001 в сравнении с разными возрастными группами; \*<sup>◊#Δ</sup> - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Инволюция вилочковой железы затрагивает в основном ее паренхиму, где элементы соединительной ткани начинают замещаться жировой тканью. С возрастом происходит интенсификация апоптоза: на 3,3% у старых крыс показатель выше, чем у половозрелых животных и на 6% (P<0,05) больше, чем у молодых крыс (рис. 110, 111, 112). В тимусе старых крыс отмечается расширение междольковых пространств, а многочисленные липидные включения, окружающие отдельные эпителиальные клетки, группируются в округлые образования (полости) (рис. 109 Б).

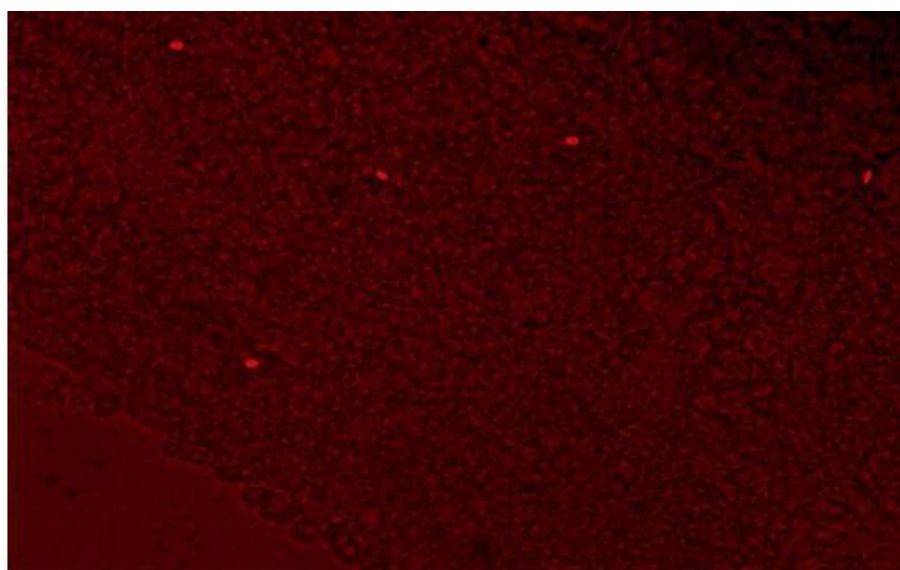
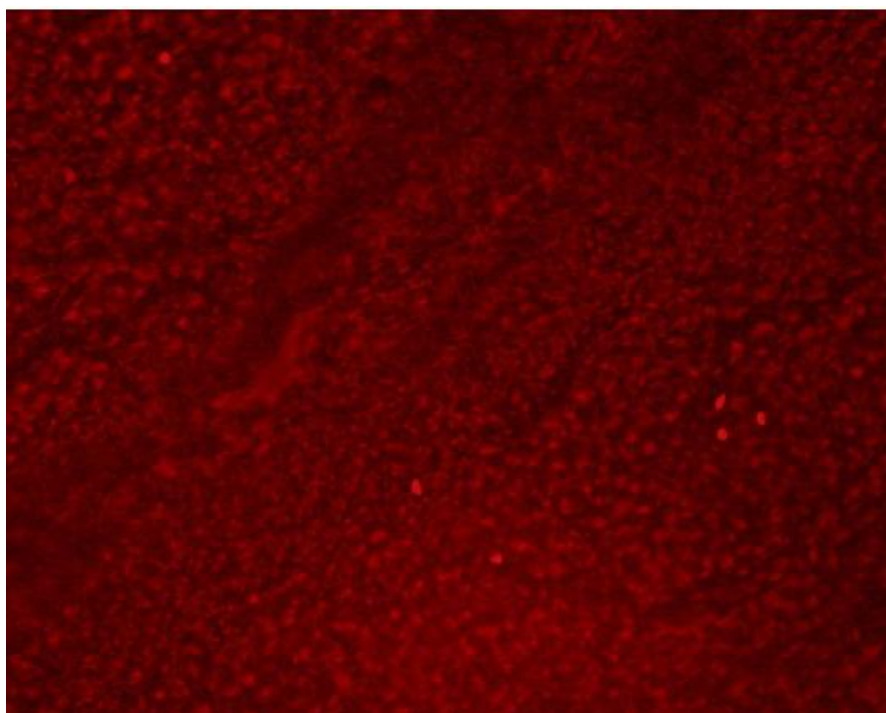
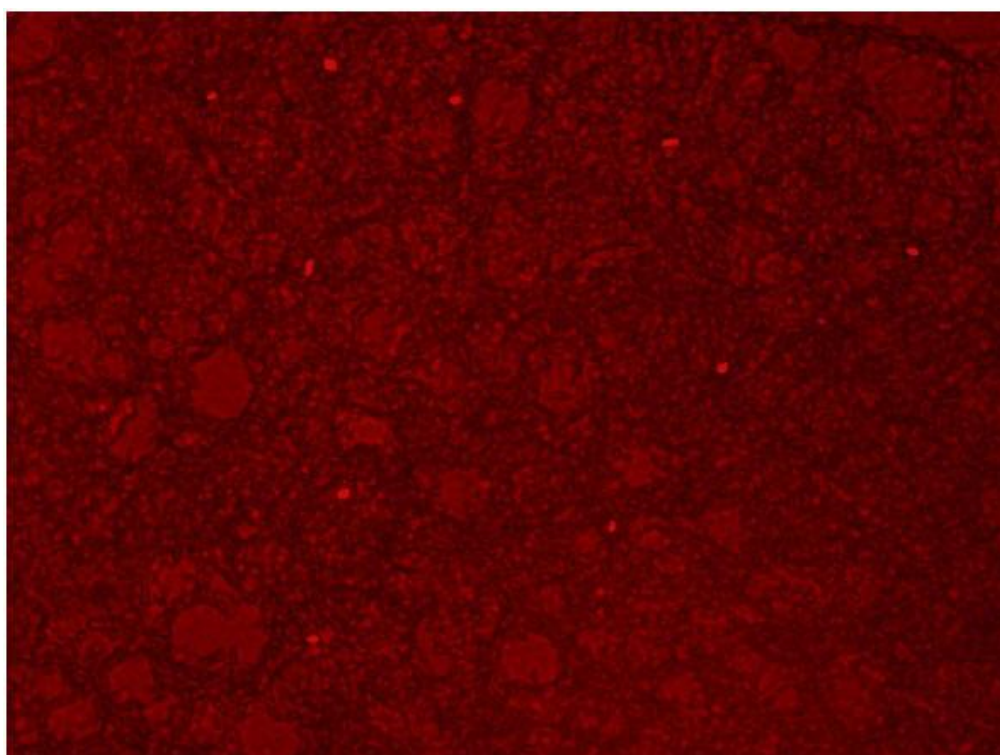


Рис. 110 Апоптозные клетки ткани тимуса неполовозрелых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 111** Апоптозные клетки ткани тимуса половозрелых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



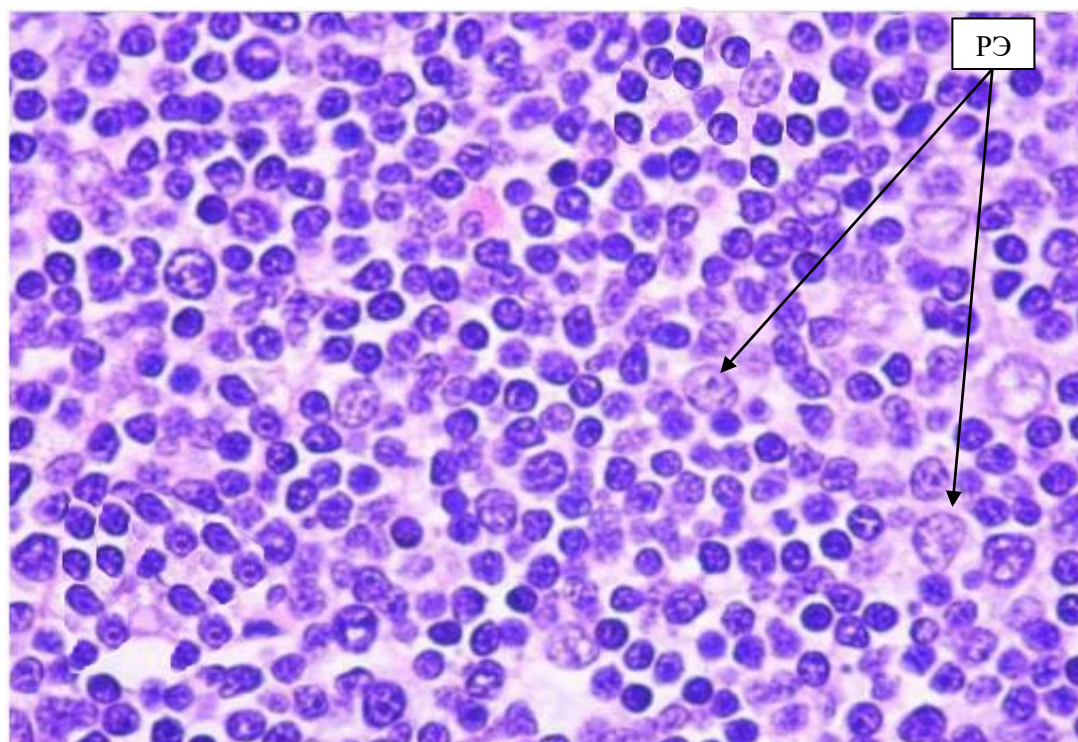
**Рис. 112** Апоптозные клетки ткани тимуса старых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

При хроническом воздействии природным газом АГКМ, содержащего сероводород в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$ , происходит достоверное уменьшение относительного коэффициента массы тимуса по отношению к контролю: у

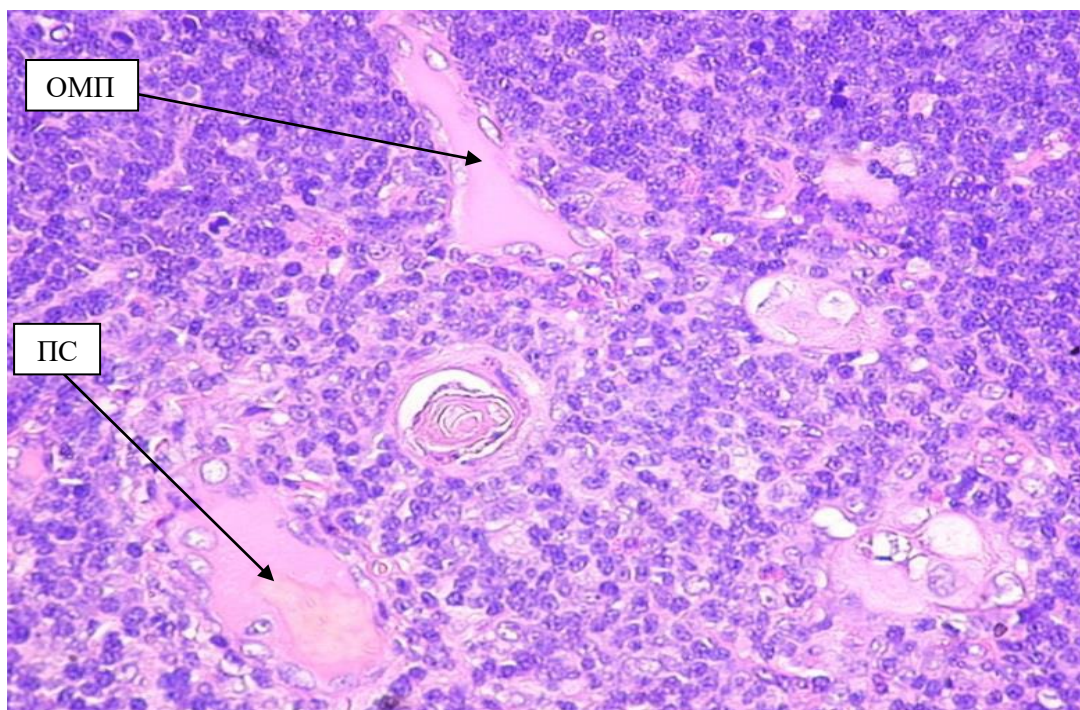
неполовозрелых животных на 29,17% ( $P < 0,01$ ), у половозрелых особей отмечено снижение показателя на 29,6% ( $P < 0,05$ ), а у старых крыс зарегистрировано максимальное изменение значения этого показателя на 45,8% ( $P < 0,001$ ) (таблицы 16, 17, 18).

На фоне токсического стресса в ткани тимуса у всех возрастных групп наблюдаются значительные морфологические изменения: определяются признаки нарушения кровообращения с явлениями полнокровия кровеносных сосудов, а так же отмечаются очаги диапедеза эритроцитов, наблюдаются ретикулоэпителиоциты с признаками дистрофических нарушений (рис. 113, 114, 115).

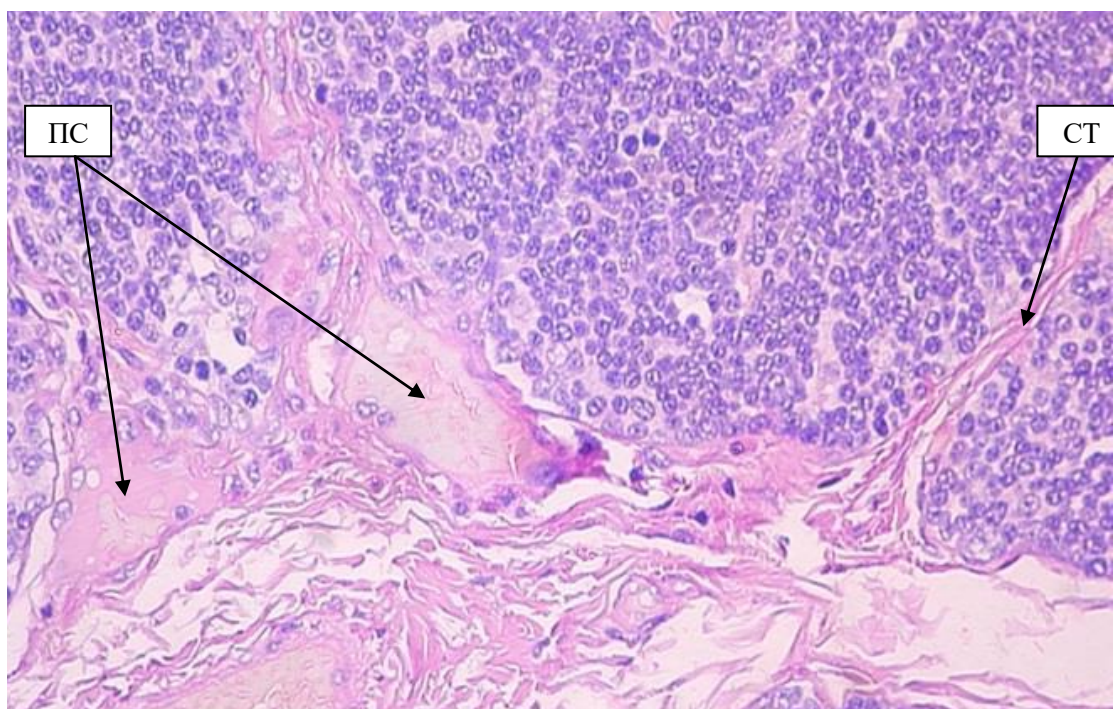
Одним из показателей ответной реакции ткани тимуса на действие экзотоксиканта является изменение уровня апоптоза лимфоцитов. Так, у экспериментальных животных, подвергшихся воздействию серосодержащего газа АГКМ, зарегистрировано увеличение количества апоптозных клеток во всех возрастных группах.



**Рис. 113** Ткань тимуса неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X400), (показано стрелками: РЭ - ретикулоэпителиоциты с признаками дистрофических изменений расположены между тимоцитами)



**Рис. 114** Ткань тимуса половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ОМП - отечность междольковых перегородок, ПС - полнокровие сосудов)



**Рис. 115** Ткань тимуса старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: СТ – разрыхление соединительнотканых структур междольковых перегородок, ПС - полнокровие сосудов)

В ткани тимуса стрессированных крыс наибольшее количество апоптозных клеток наблюдалось у неполовозрелых и старых животных, где

показатель вырос на 3,6% и 3% соответственно в сравнении с контрольным значением ( $P < 0,01$ ). У половозрелых особей этот же показатель увеличился лишь на 1,2% (таблица 43), что свидетельствует о большей стрессоустойчивости ткани тимуса данной возрастной группы.

Апоптотические изменения тимоцитов протекают на фоне разрастания жировой ткани. Если в группе половозрелых животных регистрируются лишь единичные скопления жировых клеток, то в тимусе старых крыс, они определяются не только в субкапсулярных участках, но и в междольковых перегородках соединительной ткани.

**Таблица 44**

Динамика площади ядер тимоцитов в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные (мкм <sup>2</sup> )	Половозрелые животные (мкм <sup>2</sup> )	Старые животные (мкм <sup>2</sup> )
К	247,90±1,26	215,45±0,93 <sup>ΔΔ</sup>	171,97±1,15 <sup>ΔΔ</sup>
ССГ	199,80±0,9 <sup>**</sup>	210,37±1,01 <sup>***Δ</sup>	105,24±0,58 <sup>**ΔΔΔ</sup>
ССГ+АО	310,80±1,4 <sup>○○○##</sup>	229,48±0,89 <sup>○○##ΔΔ</sup>	201,52±0,85 <sup>○○○##ΔΔΔ</sup>

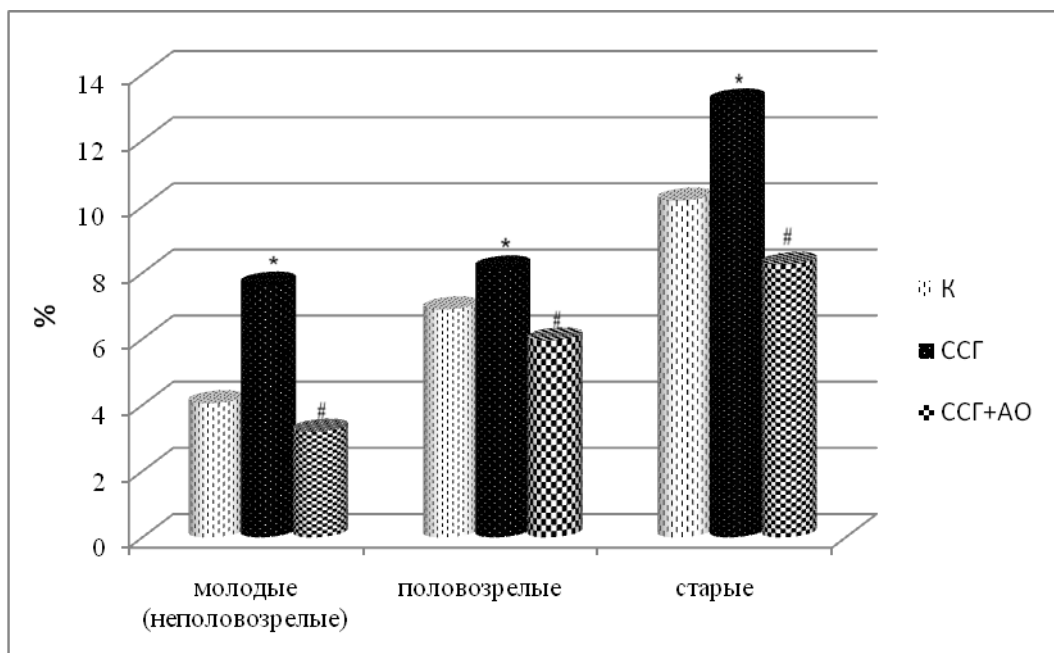
*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; <sup>◊</sup> $p < 0,05$ , <sup>○○</sup> $p < 0,01$  и <sup>○○○</sup> $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; <sup>Δ</sup> $p < 0,05$ , <sup>ΔΔ</sup> $p < 0,01$  и <sup>ΔΔΔ</sup> $p < 0,001$  в сравнении с разными возрастными группами; \*<sup>◊##Δ</sup> - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (*t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

На фоне развивающейся гипоксии в тимусе старых крыс наблюдается разрыхление соединительной ткани. Граница коркового и мозгового вещества, в дольках вилочковой железы, сглаживается с возрастом и имеет неровное очертание. Кроме того, на границе коркового и мозгового вещества во всех возрастных группах определяется полнокровие сосудов (рис. 115).

На протяжении всего периода наблюдения в условиях хронического стресса в корковом веществе долек тимуса отмечается снижение содержания тимоцитов с постепенным накоплением этих клеток в мозговом веществе. Возможно, такое скопление тимоцитов вызвано замедлением поступления их в кровотоки на фоне дисфункции сосудов кортико-медуллярной зоны. В цитоплазме лимфоцитов мозгового вещества наблюдается уменьшение

содержания конденсированных глыбок хроматофильного вещества во всех возрастных группах, по сравнению с контролем. Кроме того, в мозговом веществе ткани тимуса, как молодых, так и старых животных отмечаются дистрофические изменения: происходит измельчение и распад глыбок хроматофильного вещества. С возрастом, тимоциты теряют компактность своего расположения, вероятно с этим связано формирование в строме органа старых животных зон опустошения.

В условиях хронической ингаляции природным газом происходит снижение функциональной активности тимоцитов всех возрастных групп, с наибольшим проявлением у неполовозрелых и старых крыс. Косвенным подтверждением этого процесса является снижение показателя площади ядер лимфоцитов.



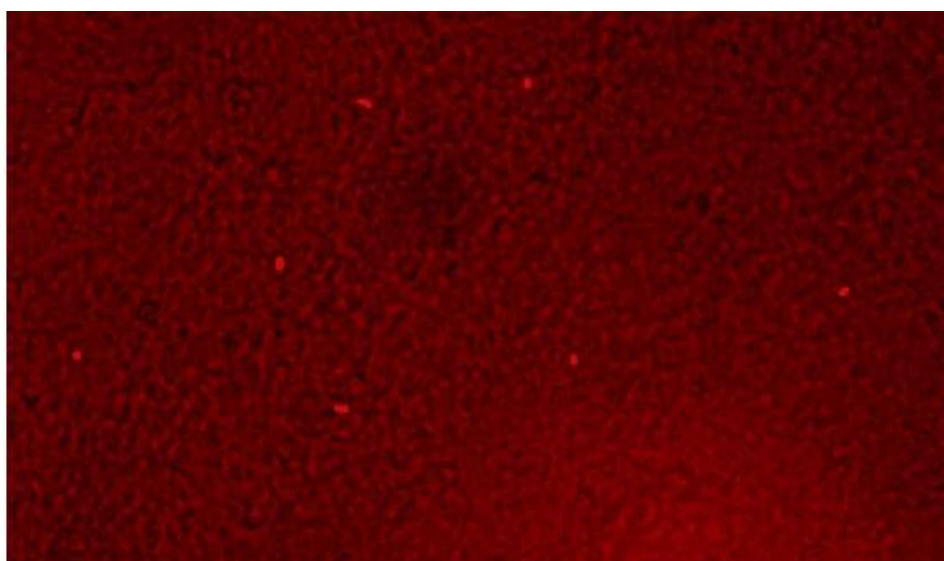
**Рис. 116** Количество апоптотных клеток в ткани тимуса в постнатальном онтогенезе животных в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

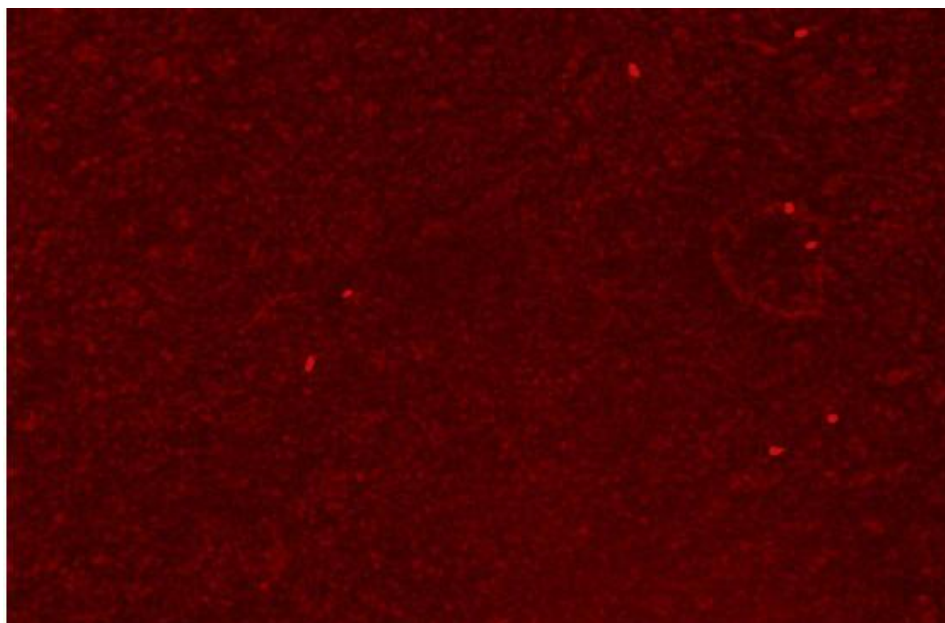
Так, в мозговом слое тимуса у молодых крыс отмечено снижение площади ядер лимфоцитов на 19,4% по сравнению с контрольным значением

( $P < 0,01$ ). Если у половозрелых особей этот же показатель незначительно снижается, всего на 2,4%, то у старых животных происходит резкое падение площади ядер лимфоцитов на 38,8% по сравнению с контролем ( $P < 0,01$ ) (таблица 44). В онтогенетическом аспекте, сравнивая данный показатель необходимо отметить, что площадь ядер лимфоцитов у половозрелых животных под действием стресса выше на 5% ( $P < 0,01$ ), чем у молодых животных и превышает на 50% площадь ядер лимфоцитов у старых крыс ( $P < 0,001$ ).

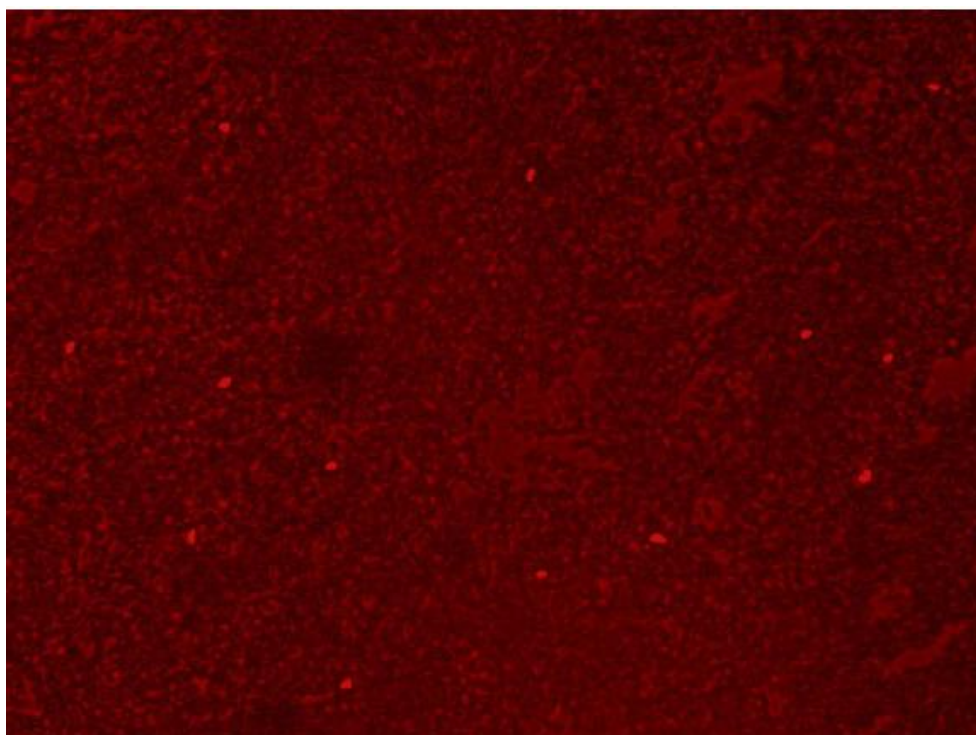
В условиях развивающейся гипоксии, вызванной природным газом, наблюдается так же изменение состояния эпителиальной стромы. Если в ткани тимуса половозрелых животных в корковом веществе имеются единичные дистрофические изменения, то у старых животных отмечается значительная гибель ретикулоэпителиоцитов. Клетки повсеместно теряют контакты с тимоцитами. При этом тела ретикулоэпителиоцитов увеличены в размерах, а ядро этих клеток с неровными контурами занимает большую часть цитоплазмы. Из литературных данных известно, что они выполняют функцию тканевого каркаса и являются источниками сигналов для развивающихся тимоцитов (Юрчинский В.Я., Забродин В.А., 2008, 2009; Bodey B., 2007; Jin J. et al., 2014).



**Рис. 117** Апоптотные клетки ткани тимуса неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 118** Апоптозные клетки ткани тимуса половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 119** Апоптозные клетки ткани тимуса старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

Установленные ранее морфологические изменения ретикулоэпителиоцитов в условиях стресса, лишают тимоцитов



возможностей для дальнейшего их полноценного функционального микроокружения.

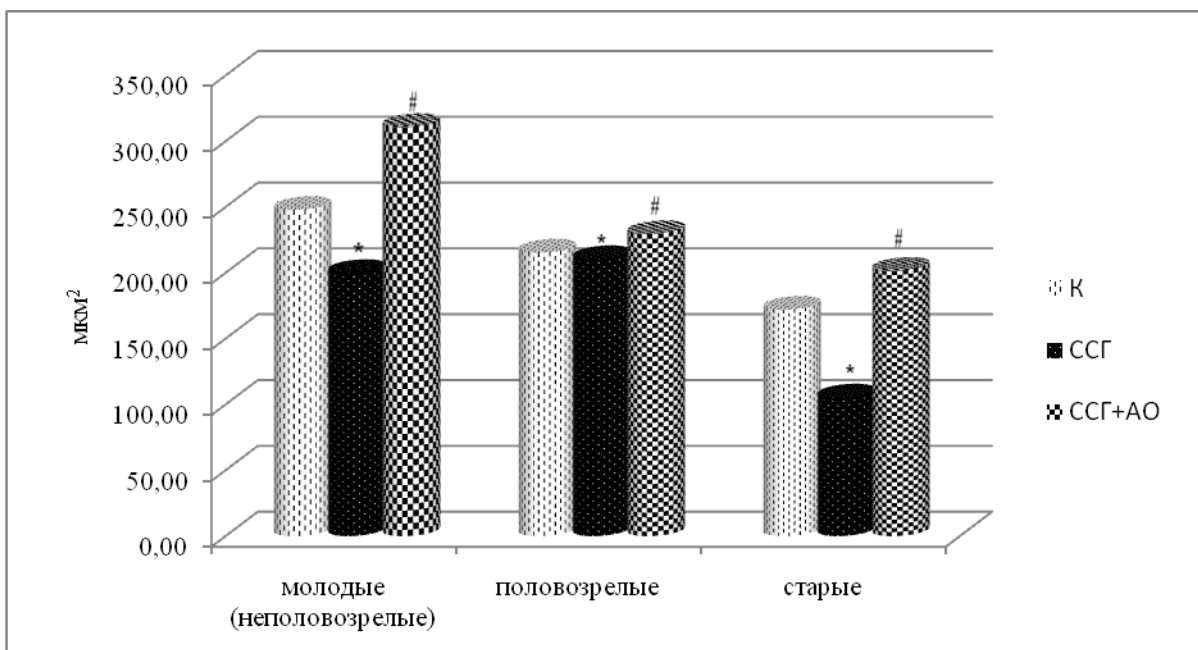
Сравнивая возрастные особенности уровня апоптоза, необходимо отметить, что в эксперименте у старых крыс количество апоптозных клеток на 5% выше, чем у половозрелых особей ( $P < 0,05$ ) и на 5,5% больше по сравнению этого показателя с молодыми стрессированными животными ( $P < 0,001$ ) (рис. 117, 118, 119).

Таким образом, при хроническом воздействии серосодержащего природного газа у экспериментальных животных происходит существенная активация апоптотических изменений клеточного звена иммунной защиты.

В результате наблюдаемых признаков гипоксии в ткани тимуса во всех возрастных группах происходят структурные преобразования, которые могут оказывать негативное влияние на весь процесс развития и дифференцировки тимоцитов. Особенно выраженной оказалась реакция микрососудистого русла в области кортикальных и внутريدольковых капилляров у молодых крыс.

Токсическое воздействие провоцирует начало акцидентальной инволюции вилочковой железы у половозрелых животных, с более выраженным ответным эффектом в ткани органа старых крыс (отек междольковой стромы, расширение внутридольковых периваскулярных пространств с явлениями полнокровия кровеносных сосудов и очагами диапедеза эритроцитов, снижение плотности расположения тимоцитов в корковом веществе, сглаживанием кортико-медуллярной границы, интенсификацией уровня апоптоза).

Установленные структурные изменения в долях тимуса в онтогенетическом аспекте являются проявлением адаптивной реакции ткани на действие экзотоксиканта. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют о снижении устойчивости ткани тимуса с возрастом к стрессовому фактору.

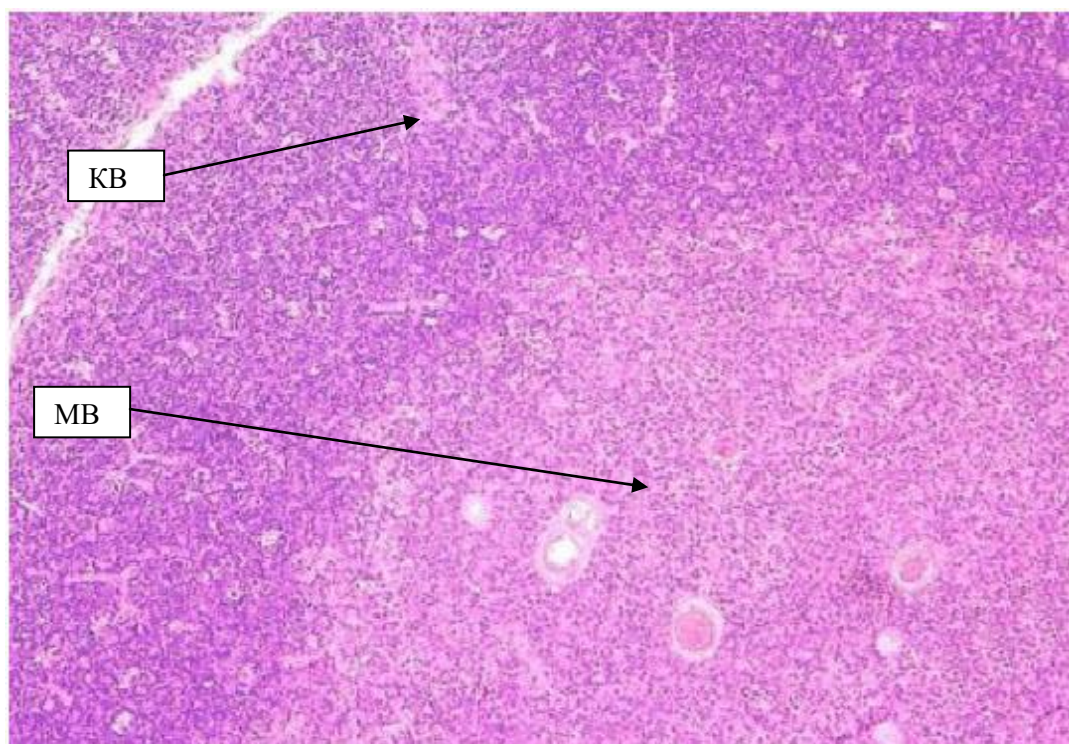


**Рис. 120** Динамика площади ядер тимоцитов в постнатальном онтогенезе в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

При сочетании токсического стресса с введением комплекса «тималин + витамин Е» относительный коэффициент массы тимуса по отношению к группе, подвергшихся воздействию ССГ, увеличивается на 58,8% у молодых крыс ( $P < 0,001$ ), на 10,53% у половозрелых животных ( $P < 0,05$ ), а у старых крыс изучаемый показатель вырос на 23% ( $P < 0,05$ ).

В условиях ингаляции ССГ на фоне введения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата происходит повышение функциональной активности тимоцитов во всех возрастных группах, с наибольшим проявлением ее у неполовозрелых и старых крыс, о чем свидетельствует увеличение показателя площади ядер лимфоцитов в мозговом веществе тимуса. Если у половозрелых особей этот показатель вырос на 9% ( $P < 0,01$ ) в сравнении с группой того же возраста, получавшей ССГ, то у молодых крыс отмечено значительное повышение площади ядер лимфоцитов на 55,6% ( $P < 0,001$ ). Максимальное увеличение изучаемого показателя зарегистрировано у старых животных: на 91,5% ( $P < 0,001$ ), в сравнении с группой получавшей ССГ (рис. 120).

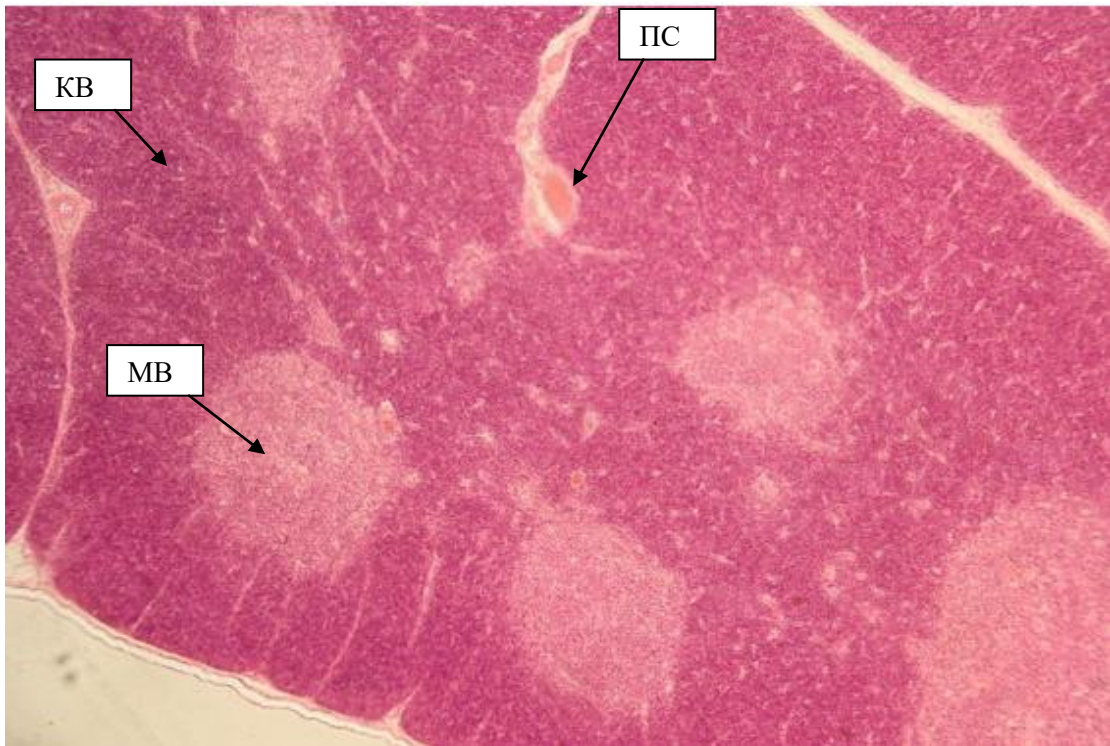


**Рис. 121** Ткань тимуса неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: КВ – корковое вещество, МВ- мозговое вещество)

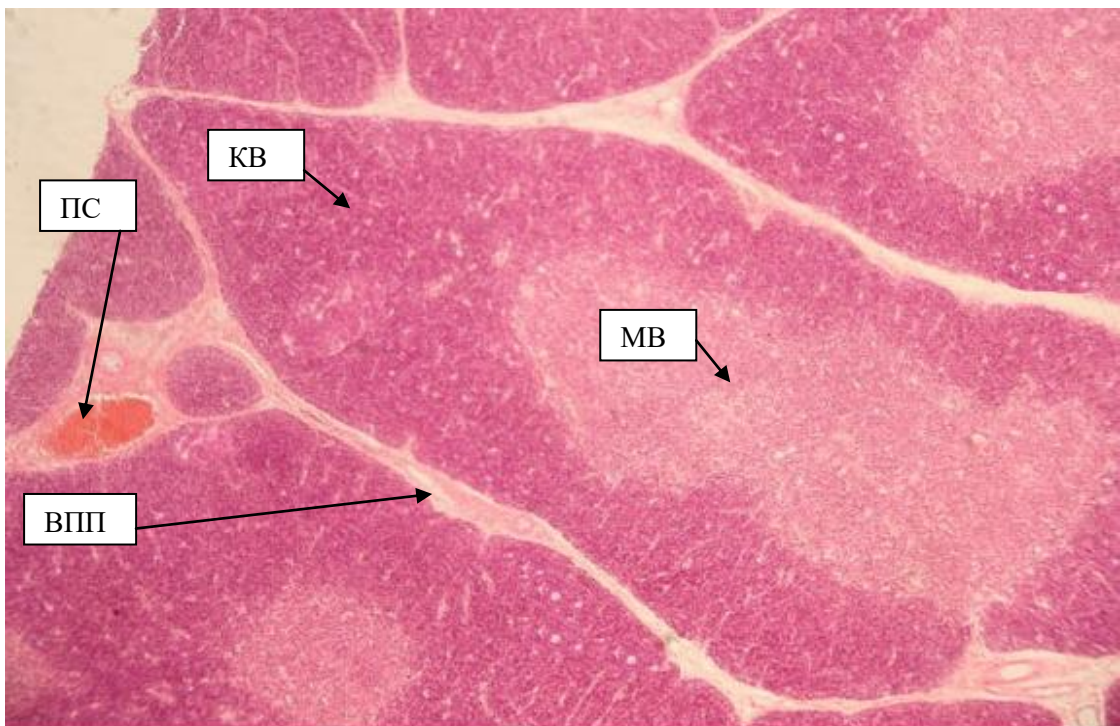
При сравнительном анализе возрастных особенностей активности ткани тимуса в условиях интоксикации и на фоне воздействия комплексом «тималин + витамин Е» обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер лимфоцитов молодых животных существенно выше этого же показателя в группе половозрелых на 26% ( $P < 0,01$ ) и на 35% больше площади ядер лимфоцитов старых крыс ( $P < 0,001$ ).

Сохранение гормонообразующей функции, является так же важным и необходимым условием для поддержания жизнеспособности тимоцитов при описанных ранее морфологических изменениях в тимусе, особенно в ткани органа старых крыс.

Так, на фоне токсического стресса введенный комплекс препаратов тималин и  $\alpha$ -токоферол ацетат способствовал снижению количества апоптотических клеток во всех возрастных группах, оказывая выраженное антиапоптотическое действие (рис. 116).



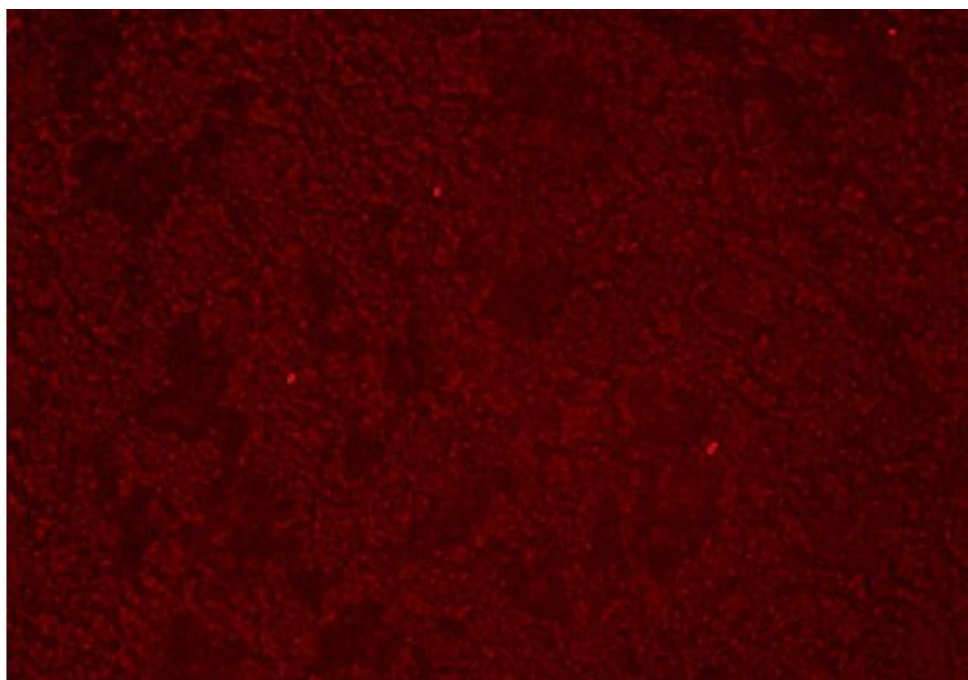
**Рис. 122** Ткань тимуса половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: КВ – корковое вещество, МВ- мозговое вещество, ПС – полнокровие сосудов)



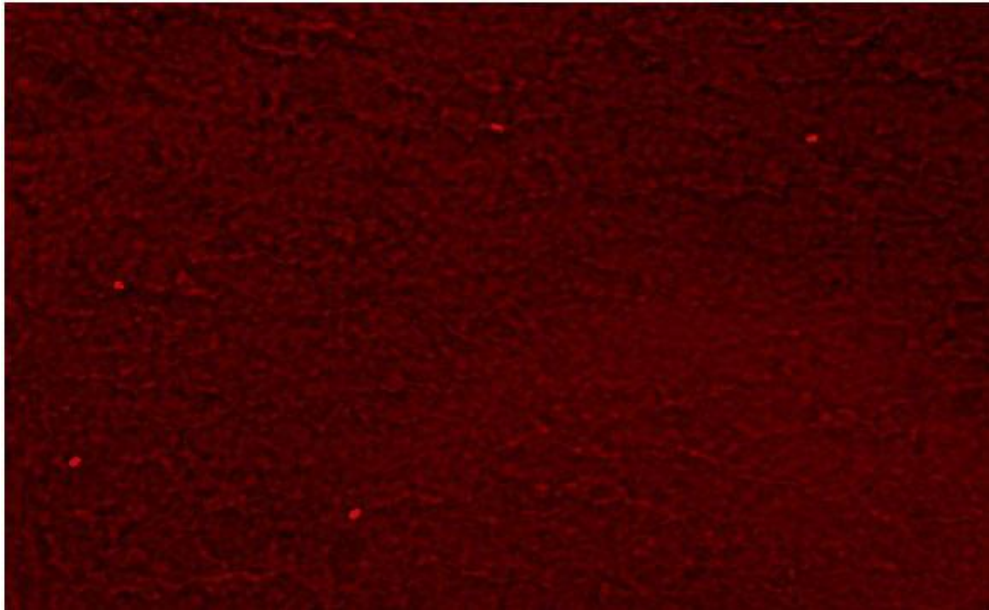
**Рис. 123** Ткань тимуса старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: КВ – корковое вещество, МВ- мозговое вещество, ПС – полнокровие сосудов, ВПП - расширение внутридольковых периваскулярных пространств)

Наибольший эффект наблюдался в ткани тимуса старых и неполовозрелых животных, где заметно снижение показателя на 2% ( $P<0,01$ ) и 1% ( $P<0,05$ ) соответственно в сравнении с контрольным значением. Положительная динамика зарегистрирована в сравнении с группами тех же возрастов, подвергшихся хроническому воздействию ССГ, отмечается снижение изучаемого показателя на 5% ( $P<0,001$ ) у старых крыс и на 4,5% ( $P<0,001$ ) у молодых животных. У половозрелых особей этот же показатель на 1% меньше в сравнении с контрольным значением ( $P<0,01$ ), и на 2% ниже, в сравнении с группой того же возраста животных, подвергшихся воздействию ССГ ( $P<0,001$ ) (таблица 43).

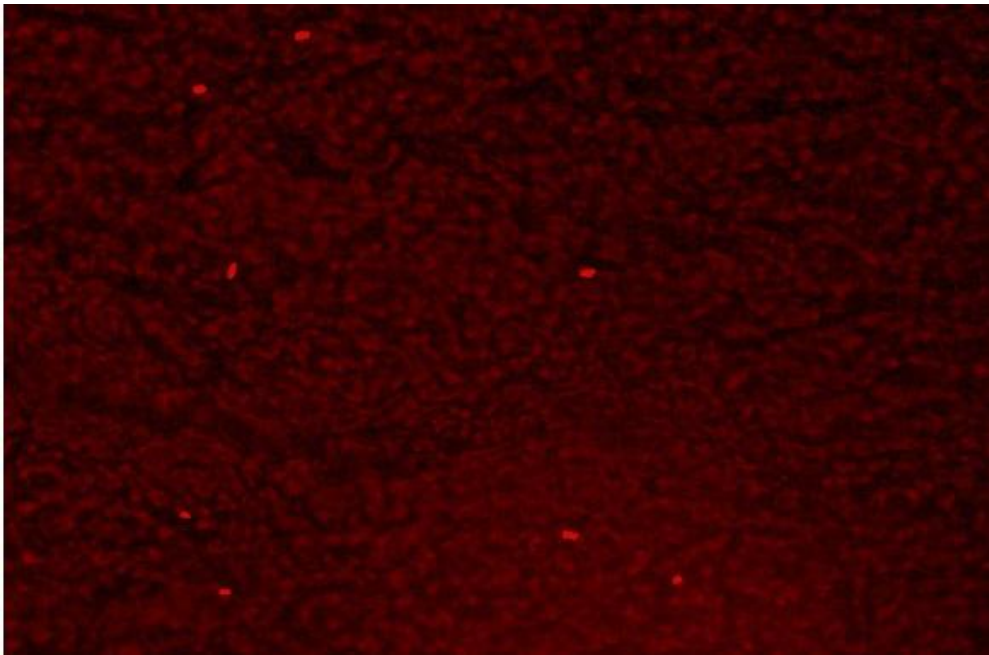
Таким образом, введение комплекса препаратов  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина на фоне действия экзотоксиканта оказало выраженное антиапоптотическое действие и необходимо для полноценного восстановления всех структурных перестроек в ткани тимуса (рис. 116).



**Рис. 124** Апоптотические клетки ткани тимуса неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 125** Апоптозные клетки ткани тимуса половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 126** Апоптозные клетки ткани тимуса старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

В силу нарушения тесных соприкосновений между ретикулоэпителиоцитами и тимоцитами коркового вещества, появления участков гибели клеток в тимусе в условиях гипоксии, на фоне введения

антиоксидантов начинает активизироваться механизм заместительной регенерации.

В строме коркового и мозгового вещества наблюдается появление ретикулоэпителиоцитов звездчатой формы с округлыми ядрами и малоконденсированным хроматином, которые тесно прилегают к лимфоцитам, что, по-видимому, создает оптимальное микроокружение для их дальнейшего развития. В результате в ткани долек вилочковой железы особенно у неполовозрелых и старых крыс наблюдается замещение значительного количества участков соединительной тканью, что можно рассматривать как компенсаторный механизм в развитии тимоцитов на фоне развивающейся гипоксии органа.

Сравнивая морфометрические показатели площади ядер лимфоцитов всех возрастных групп, получавших серосодержащий газ на фоне введения  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина, с контрольными значениями, так же необходимо отметить положительную динамику в ткани тимуса.

Так, в мозговом слое тимуса у молодых крыс отмечен достоверный подъем площади ядер на 25% по сравнению с контрольным значением ( $P < 0,01$ ), у половозрелых особей повышение составило 6,5% ( $P < 0,05$ ), а у старых животных данный показатель вырос на 17,2% по сравнению с контролем ( $P < 0,01$ ) (рис. 120).

Введение витамина Е и тималина стрессированным животным при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом оказало выраженное антиапоптотическое действие во всех возрастных группах, но с более выраженным эффектом как у молодых, так и у старых животных.

Это говорит о своевременности и целесообразности коррекции морфофункциональных изменений в ткани тимуса применения комплекса выбранных препаратов на фоне развивающейся гипоксии.

## **7.2 Возрастные особенности морфофункциональных преобразований паховых лимфатических узлов белых крыс**

Паховые лимфатические узлы в большинстве случаев имеют овальную форму. В четырех случаях в результате проведенного исследования нами обнаружена бобовидная форма. Диаметр лимфатических узлов колеблется от 0,4 - 0,5 см у молодых (неполовозрелых) крыс, достигая максимума до 1 см у старых животных. Лимфатический узел покрыт соединительнотканной капсулой, от которой отходят, направленные внутрь многочисленные соединительнотканнные трабекулы, достигающие наружной поверхности узла и формирующие в дальнейшем его соединительнотканную строму. У старых крыс капсула содержит большой объём жировой клетчатки.

У молодых крыс относительная масса пахового лимфатического узла составила  $0,09 \pm 0,017$  мг, в группе половозрелых животных она уменьшается до  $0,07 \pm 0,011$  мг и в дальнейшем, у старых крыс, вновь увеличивается до  $0,16 \pm 0,020$  мг (таблица 16, 17, 18).

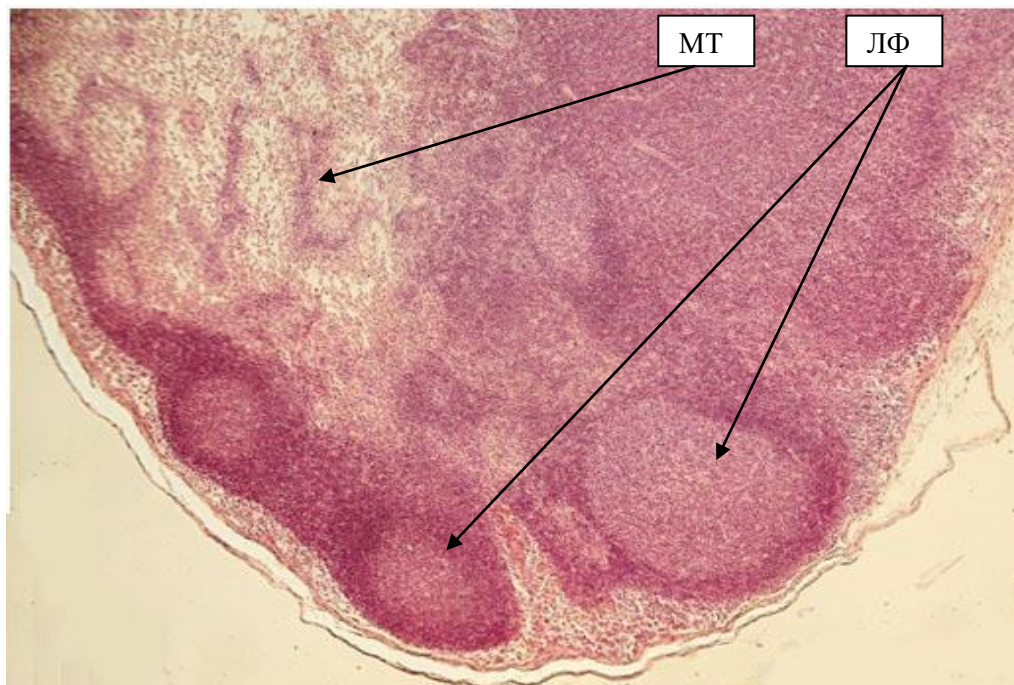
При световой микроскопии в лимфатическом узле всех возрастных групп животных выделяют корковое и мозговое вещество, а так же лимфатические синусы, которые выстланы эндотелиоподобными ретикулярными клетками и заполнены лимфой. (рис. 128, 129).

Корковое вещество располагается в периферической части узла и содержит первичные лимфатические фолликулы, диаметр которых колеблется от 0,3 - 0,4 мм у молодых животных; 0,9 - 1 мм составляет у половозрелых крыс и размер в дальнейшем уменьшается до 0,5 - 0,6 мм у старых крыс. Лимфатические фолликулы, располагаются в один ряд, имеют овально-округлую форму и представлены несколькими слоями лимфоидных клеток, диаметр которых колеблется от 5 - 6 мкм. Цитоплазма занимает большую часть этих клеток и содержит пылевидное хроматофильное вещество во всех возрастных группах.

У неполовозрелых крыс фолликулы (рис. 127) имеют более плотную структуру. У половозрелых и старых животных в своей периферической



части фолликулы более рыхлой структуры, так как покрыты одним слоем эндотелиоподобными ретикулярными клетками и содержат ретикулярные фибриллы.



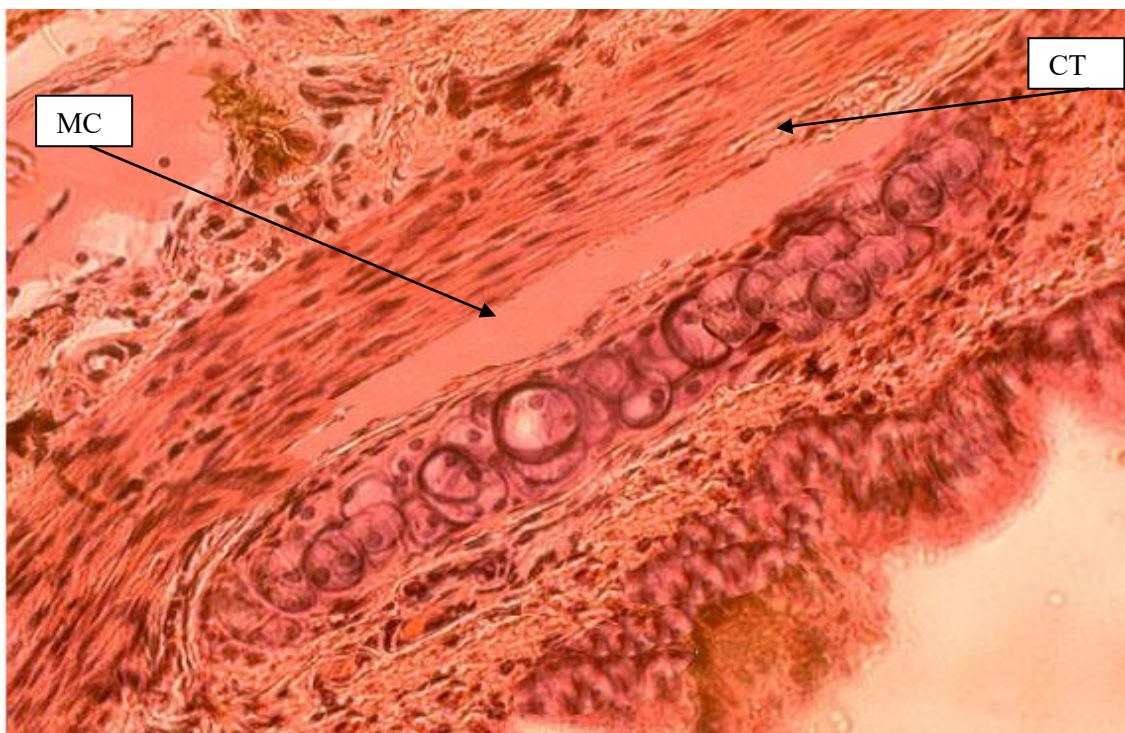
**Рис. 127** Ткань пахового лимфатического узла неполовозрелых крыс в контроле (Окраска гематоксином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ЛФ – лимфатические фолликулы, МТ- мозговые тяжи)

В толще коркового вещества в радиальном направлении проходят соединительнотканые трабекулы и лимфатические синусы, разделяя его структуру на отдельные дольки, имеющие форму пирамид (основание которых обращено к соединительнотканной капсуле, а вершины – к мозговому веществу), поперечный размер этих образований колеблется от 0,4 до 5мм.

У половозрелых животных внутри некоторых лимфатических фолликулов появляются более светлые зоны или центры размножения. В них наблюдаются крупные лимфоидные клетки, с относительно большим объемом цитоплазмы.

Эта область узла имеет более светлую окраску, по сравнению с периферией фолликулов, где преимущественно располагаются скопления

малых лимфоцитов, характеризующихся меньшими размерами и объемом цитоплазмы, в которой находится большое количество хроматофильного вещества, расположенного диффузно и представленного в виде мелких зерен и пыли.

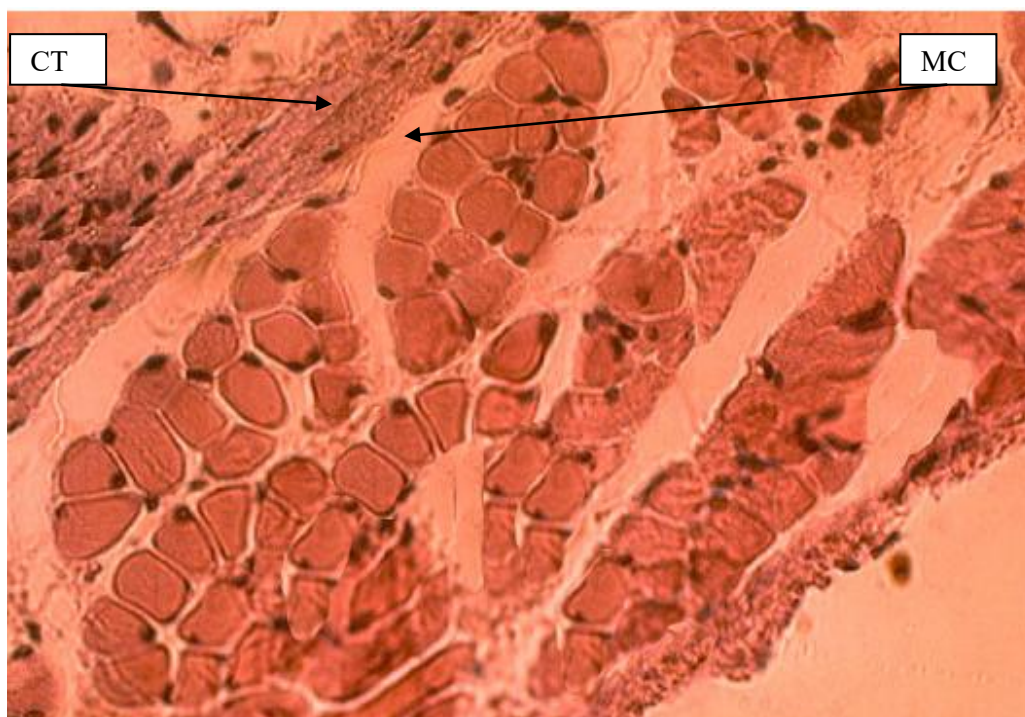


**Рис. 128** Ткань пахового лимфатического узла половозрелых крыс в контроле (Окраска гематоксином-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: МС- мозговые синусы, СТ – умеренная коллагенизация вокруг мозговых синусов)

В центрах размножения всех возрастных групп исследуемых животных находятся единичные дендритные клетки. Согласно литературным данным они имеют костномозговое происхождение и на своих отростках удерживают антигены, активирующие В-лимфоциты, а так же макрофаги, фагоцитирующие погибающие апоптозом В-лимфоциты и антигены (Свирин С.В., 2010; Пугач П.В., 2011, 2012; Сапин М.Р., 2000, 2012; Расулов К.К. и др., 2012).

Паракортикальная зона лимфатического узла находится на границе между корковым и мозговым веществом. Это тимусзависимая зона, или Т-зона. Площадь ее у половозрелых животных в 2,5 раза больше, чем у молодых и старых крыс. В паракортикальной зоне располагаются Т-

лимфоциты, цитоплазма которых содержит крупное ядро и глыбки хроматофильного вещества.



**Рис. 129** Ткань пахового лимфатического узла старых крыс в контроле (Окраска гематоксином-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: МС- мозговые синусы, СТ – умеренная коллагенизация вокруг мозговых синусов)

Нами зарегистрировано, что площадь ядер лимфоцитов этой зоны составляет в среднем: у молодых крыс -  $177,42 \pm 1,14$   $\mu\text{m}^2$ , у половозрелых -  $127,78 \pm 1,31$   $\mu\text{m}^2$ , у старых животных  $113,64 \pm 0,87$   $\mu\text{m}^2$  (таблица 45). При сравнении возрастных особенностей изменения этого показателя у интактных крыс обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер у неполовозрелых животных на 36% больше площади ядер старых крыс и на 28% выше, чем у половозрелых животных ( $P < 0,01$ ). В то же время, площадь ядер интактных половозрелых крыс существенно превышает этот же показатель у старых животных на 11% ( $P < 0,05$ ). Зарегистрированные изменения свидетельствуют о возрастных особенностях интенсивности функционирования ткани лимфатических узлов.

В паракортикальной зоне определяются дендритные клетки, наибольшее количество которых наблюдается на препаратах лимфатического

узла половозрелых крыс. Кроме того, в этой зоне располагаются венулы, внутреннюю стенку которых выстилают эндотелиоциты кубической формы. Согласно литературным данным (Сапин М.Р., 2012) через стенку этих сосудов происходит переход В- и Т-лимфоцитов из крови в строму лимфатического узла.

**Таблица 45**

Динамика площади ядер лимфоцитов в постнатальном онтогенезе крыс, норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные (мкм <sup>2</sup> )	Половозрелые животные (мкм <sup>2</sup> )	Старые животные (мкм <sup>2</sup> )
К	177,42±1,14	127,78±1,31 <sup>ΔΔ</sup>	113,64±0,87 <sup>ΔΔ</sup>
ССГ	158,19±1,32 <sup>*</sup>	118,57±0,85 <sup>***ΔΔΔ</sup>	102,21±1,02 <sup>*ΔΔ</sup>
ССГ+АО	182,90±1,25 <sup>◊##</sup>	134,18±1,01 <sup>◊###ΔΔΔ</sup>	119,13±1,40 <sup>◊###ΔΔ</sup>

*Примечание:* \*p<0,05, \*\*p<0,01 и \*\*\*p<0,001 в сравнении с контролем; ◊p<0,05, ◊◊p<0,01 и ◊◊◊p<0,001 в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; #p<0,05, ##p<0,01 и ###p<0,001 в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; Δp<0,05, ΔΔp<0,01 и ΔΔΔp<0,001 в сравнении с разными возрастными группами; \*◊#Δ - значимые различия (p<0,05) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Мозговое вещество на изучаемых препаратах всех возрастных групп состоит из следующих структурных компонентов: мозговых и мягкотных тяжей, а так же представлено промежуточными мозговыми синусами. Мозговые тяжи - это В-зависимая зона, снаружи к которым прилегают мозговые синусы. В образовании стенки лимфатических синусов участвуют эндотелиоциты и ретикулярные клетки, которые имеют отростчатую форму. При этом отростки ретикулярных клеток пересекают пространство синуса и формируют трехмерную сеть, замедляющую ток лимфы, что способствует ее более полному очищению макрофагами. В синусах наблюдается много свободных лимфоцитов. У половозрелых и старых крыс в формировании такой сети принимают участие ретикулярные волокна, располагающиеся в разных направлениях. В связи с этим, в паховых лимфатических узлах этих групп животных отмечается расширение пространства мозговых синусов в сравнении с молодыми животными. У старых крыс лимфатические узелки и

их центры размножения постепенно исчезают, разрастается соединительная ткань трабекул, и происходит замещение стромы органа жировой тканью.

Нами установлено, что количество апоптозных клеток в контроле неодинаково, и с возрастом имеет тенденцию к увеличению, так: у молодых животных этот показатель составил  $5,23 \pm 0,780$ , половозрелых –  $6,17 \pm 0,391$ , а у старых крыс –  $8,08 \pm 0,853$  (таблица 46).

**Таблица 46**

Количество апоптозных клеток в ткани пахового лимфатического узла в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

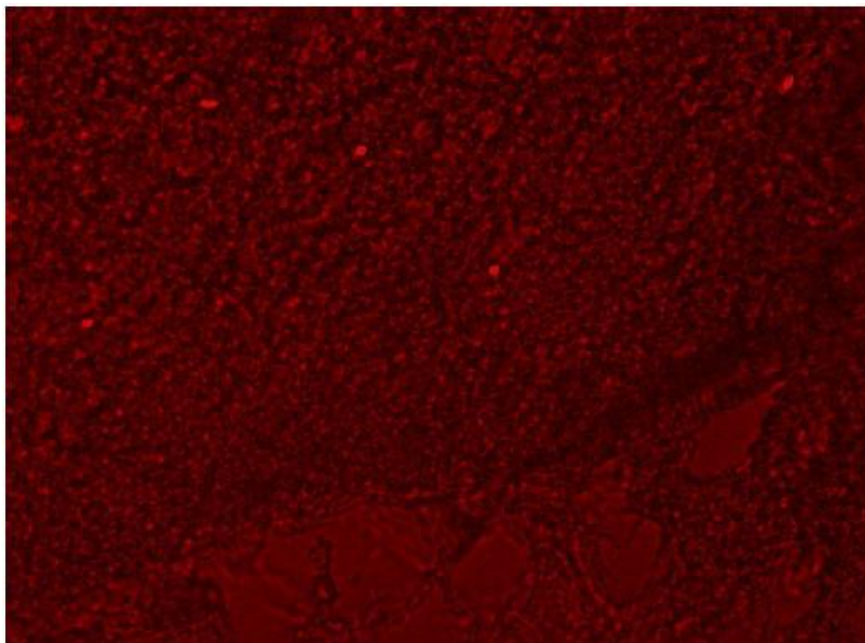
Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные, %	Половозрелые животные, %	Старые животные, %
К	$5,23 \pm 0,780$	$6,17 \pm 0,391^{\Delta}$	$8,08 \pm 0,853^{\Delta\Delta}$
ССГ	$6,64 \pm 0,943^*$	$7,22 \pm 0,269^{*\Delta\Delta\Delta}$	$10,18 \pm 0,428^{*\Delta\Delta\Delta}$
ССГ+АО	$4,91 \pm 0,281^{\circ\#}$	$5,39 \pm 0,637^{\circ\circ\#\Delta}$	$7,72 \pm 0,926^{\circ\circ\#\Delta\Delta}$

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем;  $^{\circ}p < 0,05$ ,  $^{\circ\circ}p < 0,01$  и  $^{\circ\circ\circ}p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО;  $^{\#}p < 0,05$ ,  $^{\#\#}p < 0,01$  и  $^{\#\#\#}p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО;  $^{\Delta}p < 0,05$ ,  $^{\Delta\Delta}p < 0,01$  и  $^{\Delta\Delta\Delta}p < 0,001$  в сравнении с разными возрастными группами;  $^{\circ\#\Delta}$  - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

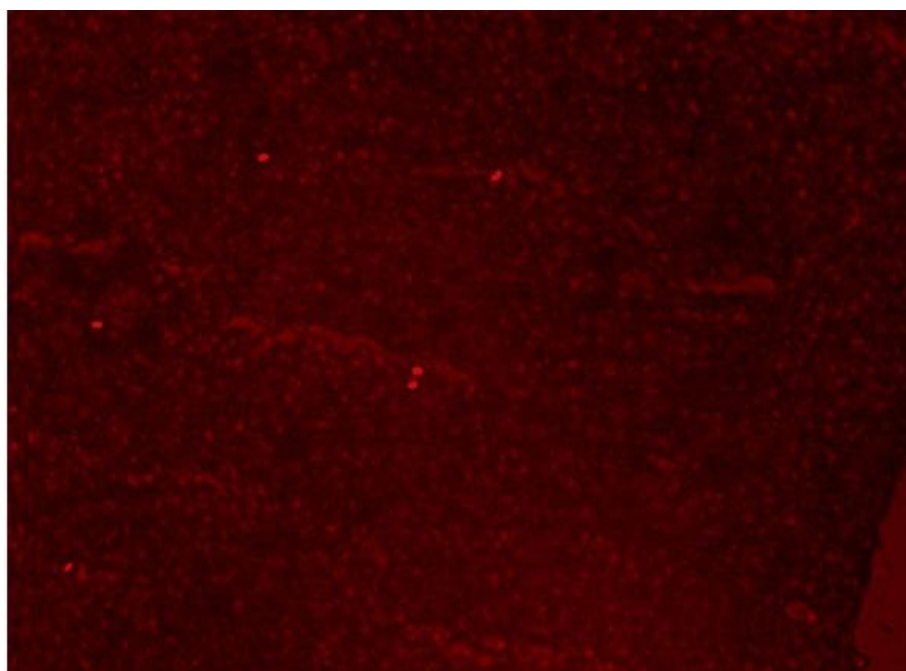
Таким образом, в постнатальном онтогенезе пахового лимфатического узла на фоне снижения размеров коркового вещества с возрастом животных увеличивается доля мозгового вещества, в связи с этим промежуточные синусы становятся особенно широкими у старых крыс. Возрастные изменения затрагивают в основном строму лимфатического узла, плотность ее увеличивается, происходит разрастание соединительной ткани (рис. 129). С возрастом наблюдается исчезновение лимфатических узелков и центров размножения, происходит интенсификация апоптоза: так, у старых крыс на 2% показатель выше, чем у половозрелых животных и на 2,9% ( $P < 0,05$ ) больше, чем у молодых особей.

При хроническом воздействии природного газа АГКМ, содержащего сероводород в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$ , происходит достоверное уменьшение относительного коэффициента массы паховых лимфоузлов по отношению к контролю: у неполовозрелых животных на 55,6% ( $P < 0,05$ ), у половозрелых

особей отмечено снижение данного показателя на 57% ( $P < 0,001$ ), а у старых крыс зарегистрировано (таблицы 16, 17, 18) максимальное изменение значения этого показателя на 81% ( $P < 0,001$ ).

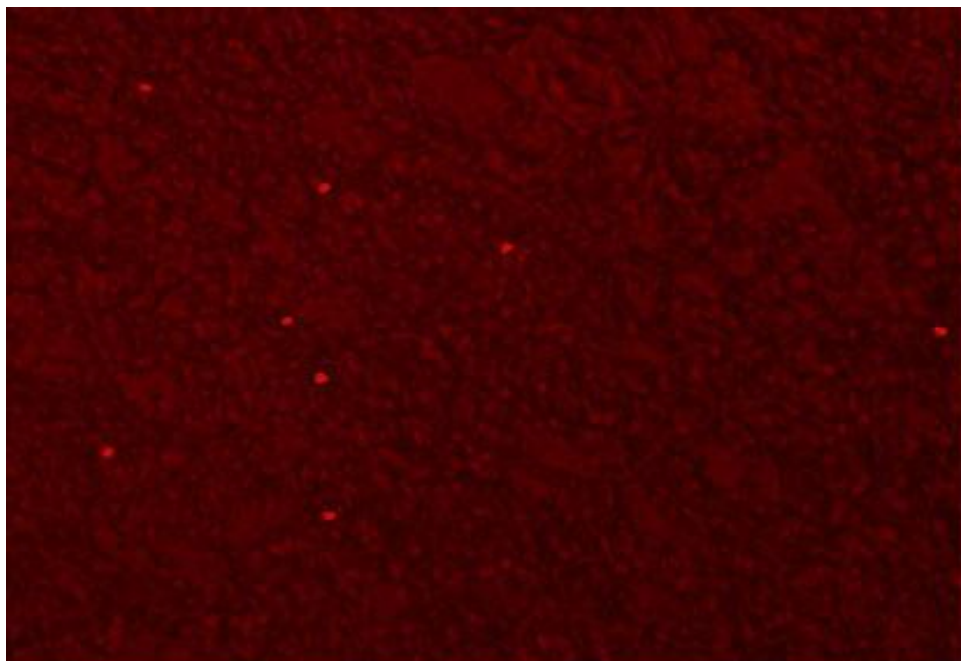


**Рис. 130** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла неполовозрелых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 131** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла половозрелых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

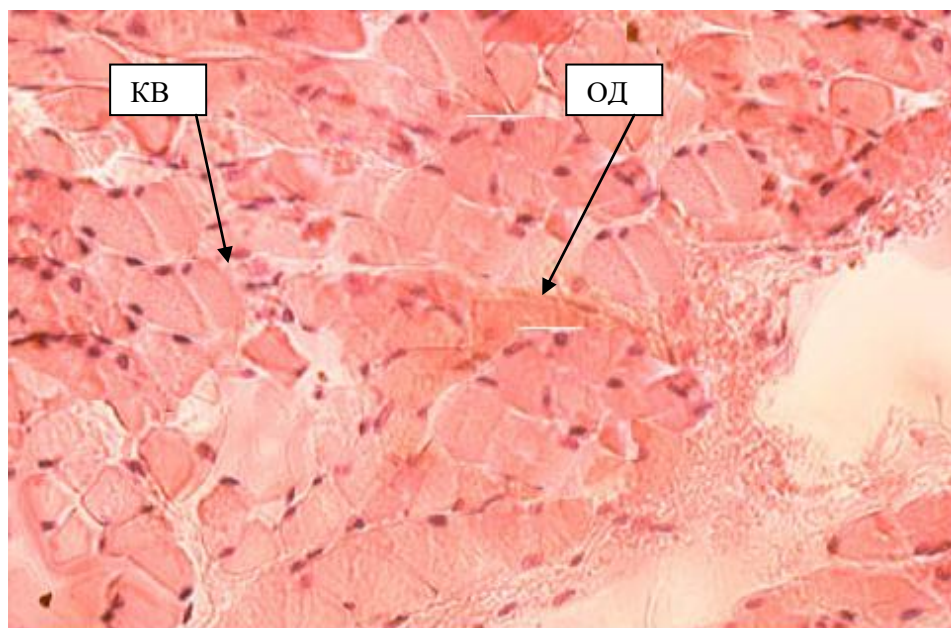
На фоне хронического стресса в ткани паховых лимфатических узлов у всех возрастных групп наблюдаются морфологические изменения, более выраженные у молодых и старых крыс (рис. 133, 134, 135).



**Рис. 132** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла старых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

Одним из показателей ответной реакции ткани пахового лимфатического узла на токсическое стрессовое воздействие является изменение уровня апоптоза лимфоцитов. Так, у экспериментальных животных, подвергшихся воздействию серосодержащего газа АГКМ, зарегистрировано увеличение количества апоптозных клеток во всех возрастных группах (рис. 136, 138, 139). При этом, наибольшее количество апоптозных клеток наблюдалось у стрессированных старых крыс, где показатель вырос на 2,1% в сравнении с контрольным значением ( $P < 0,05$ ).

У молодых животных зарегистрировано увеличение количества апоптозных клеток на 1,4% в сравнении с контрольным значением ( $P < 0,05$ ), а у половозрелых особей данный показатель незначительно увеличился всего на 1% (таблица 46).



**Рис. 133** Ткань пахового лимфоузла неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: КВ – корковое вещество, ОД – очаг диапедеза)

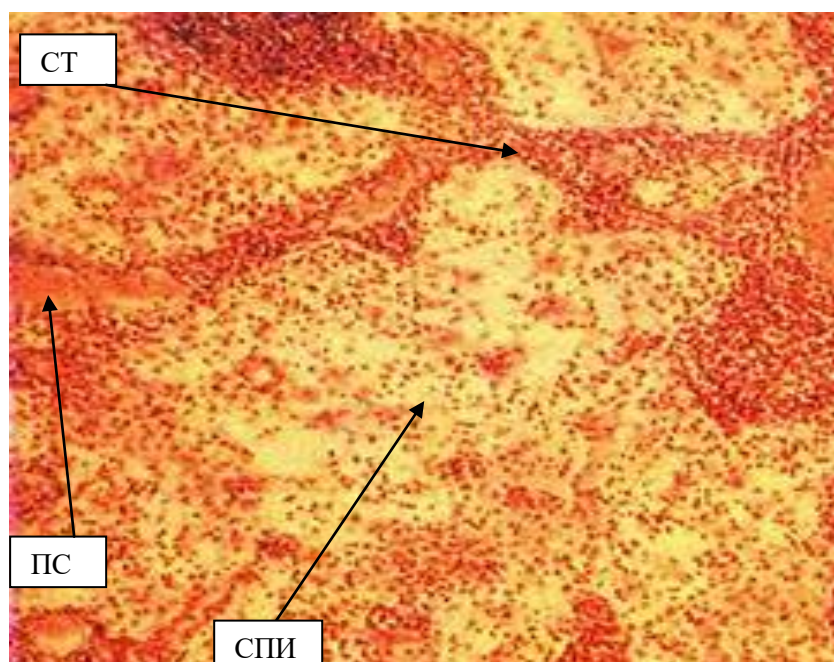


**Рис. 134** Ткань пахового лимфоузла половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ПС- полнокровие сосудов, КВ – корковое вещество, МВ- мозговое вещество)

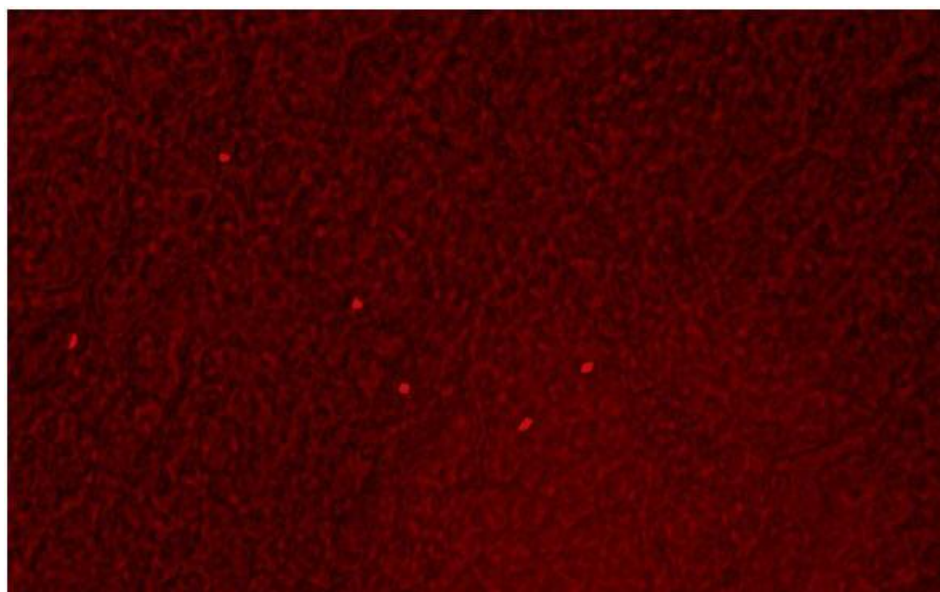
Сравнивая возрастные особенности апоптоза, необходимо отметить, что в условиях стресса у старых крыс количество апоптозных клеток на 3%



выше, чем у половозрелых особей ( $P < 0,001$ ) и 3,5% больше по сравнению этого показателя с молодыми животными ( $P < 0,001$ ).



**Рис. 135** Ткань пахового лимфоузла старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ПС- полнокровие сосудов, СТ – разрастание соединительной ткани (фиброз), СПИ - снижение плотности иммунокомпетентных клеток)

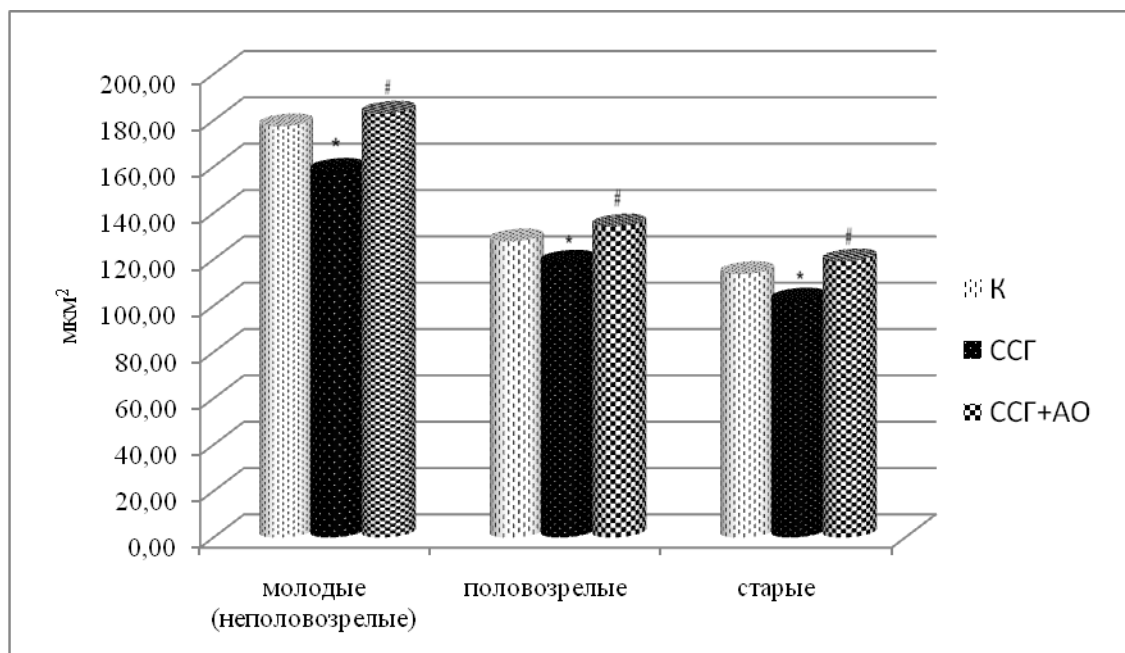


**Рис. 136** Апоптотные клетки ткани пахового лимфоузла неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

У половозрелых крыс при гипоксии количество апоптотных клеток незначительно выше, чем у молодых всего на 0,6% ( $P < 0,05$ ), что

свидетельствует о большей стрессоустойчивости ткани лимфатического узла данной возрастной группы.

В условиях развивающейся гипоксии, вызванной воздействием природного газа, апоптотические изменения протекают на фоне морфофункциональных перестроек в органе.

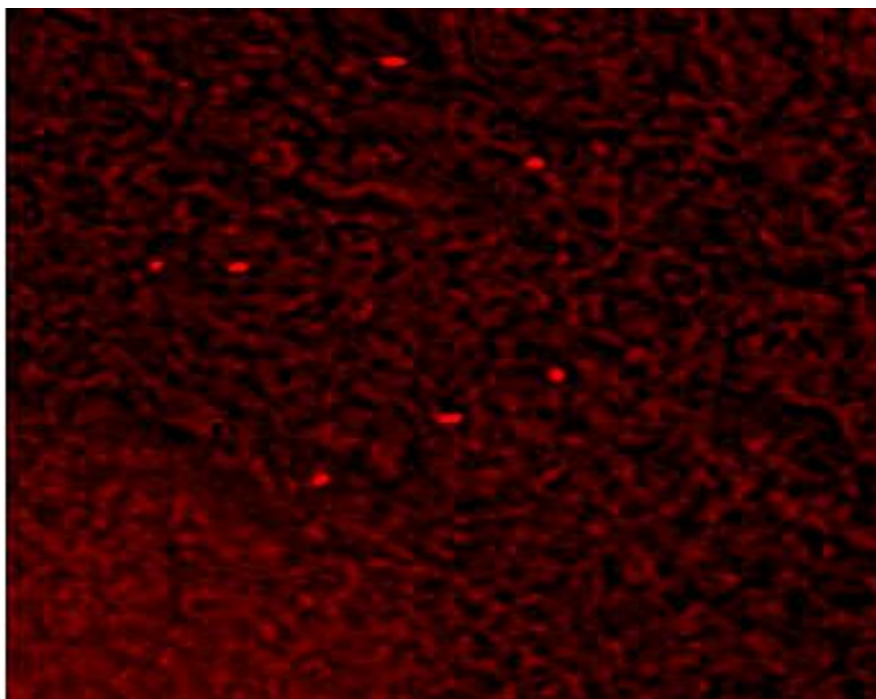


**Рис. 137** Динамика площади ядер лимфоцитов в постнатальном онтогенезе в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

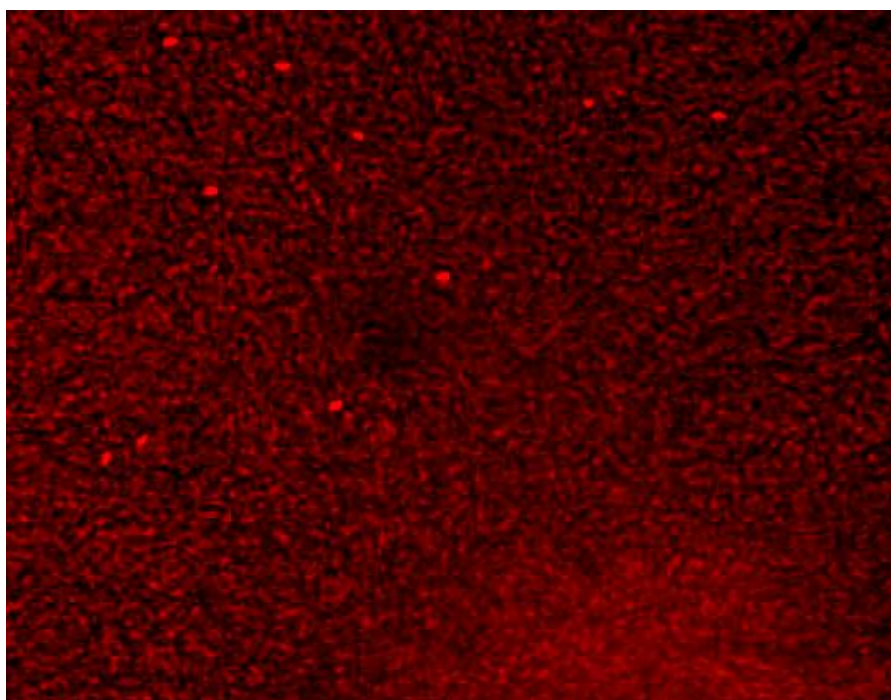
*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

У неполовозрелых животных площадь коркового вещества в 2 раза преобладает над площадью мозгового, в связи с этим в структуре узла доминирует доля Т-зависимой зоны. В маргинальной зоне увеличивается число малых и средних лимфоидных клеток, содержание которых колеблется от 65 до 80%. В цитоплазме этих лимфоцитов наблюдается уменьшение количества конденсированных глыбок хроматофильного вещества по сравнению с контролем. В группе половозрелых и старых животных реакция пахового лимфатического узла на токсическое стрессовое воздействие проявляется уменьшением общей площади среза (почти в 2 раза), а так же сокращением площадей коркового и мозгового вещества. У старых крыс

наблюдается снижение суммарной площади синусной системы, преимущественно за счет мозговых синусов; но параллельно отмечается возрастание (более чем в 2 раза) доли капсулы и краевого синуса.

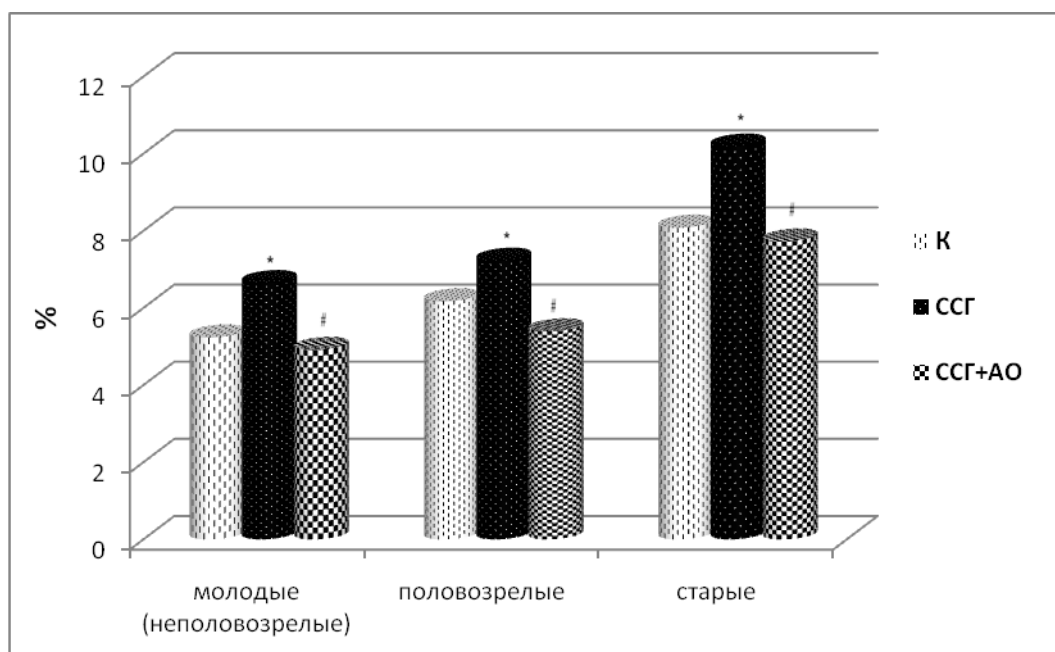


**Рис. 138** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 139** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

Вероятно, данные структурные изменения связаны с усилением притока лимфы и отеком ткани пахового лимфатического узла. В условиях хронической гипоксии, вызванной воздействием природного газа, в паракортикальной зоне с возрастом, лимфоциты теряют компактность своего расположения (рис.135).



**Рис. 140** Количество апоптозных клеток в ткани пахового лимфоузла в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

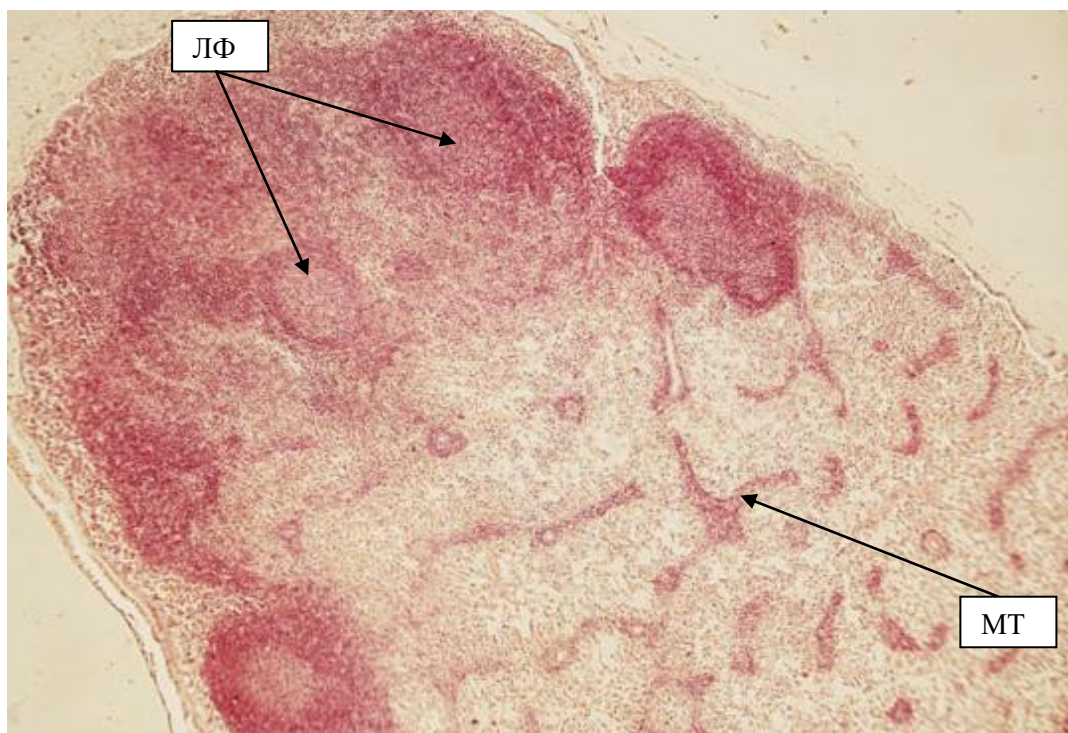
Во всех изучаемых группах животных в цитоплазме лимфоцитов этой зоны происходит измельчение и распад глыбок хроматофильного вещества.

Косвенным подтверждением об изменении функциональной активности ткани является снижение площади ядер лимфоцитов. Так, наибольшее изменение площади ядер наблюдается у молодых и старых крыс: снижение происходит на 10,84% и 10,06% соответственно по сравнению с контрольным значением ( $P < 0,05$ ), у половозрелых особей этот же показатель уменьшается на 7,2% ( $P < 0,001$ ) по сравнению с контролем (таблица 45). При сравнении возрастных особенностей изменения этого показателя у

стрессированных крыс обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер у неполовозрелых животных на 35,6% больше площади ядер старых крыс ( $P < 0,01$ ) и на 25% выше, чем у половозрелых животных ( $P < 0,001$ ). В то же время, площадь ядер половозрелых крыс при гипоксии существенно превышает этот же показатель у старых животных на 13,8% ( $P < 0,05$ ).

Таким образом, при хроническом воздействии серосодержащего природного газа у экспериментальных животных происходит существенная активация апоптотических изменений в ткани узла, снижение численности клеток лимфоидного ряда.

Выявленные структурные перестройки в паховом лимфатическом узле в условиях стресса можно рассматривать как морфологические критерии, свидетельствующие о нарушении его транспортной и детоксикационной функций, особенно выраженные в строме органа старых крыс.



**Рис. 141** Ткань пахового лимфоузла неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ЛФ – лимфатические фолликулы, МТ- мозговые тяжи)

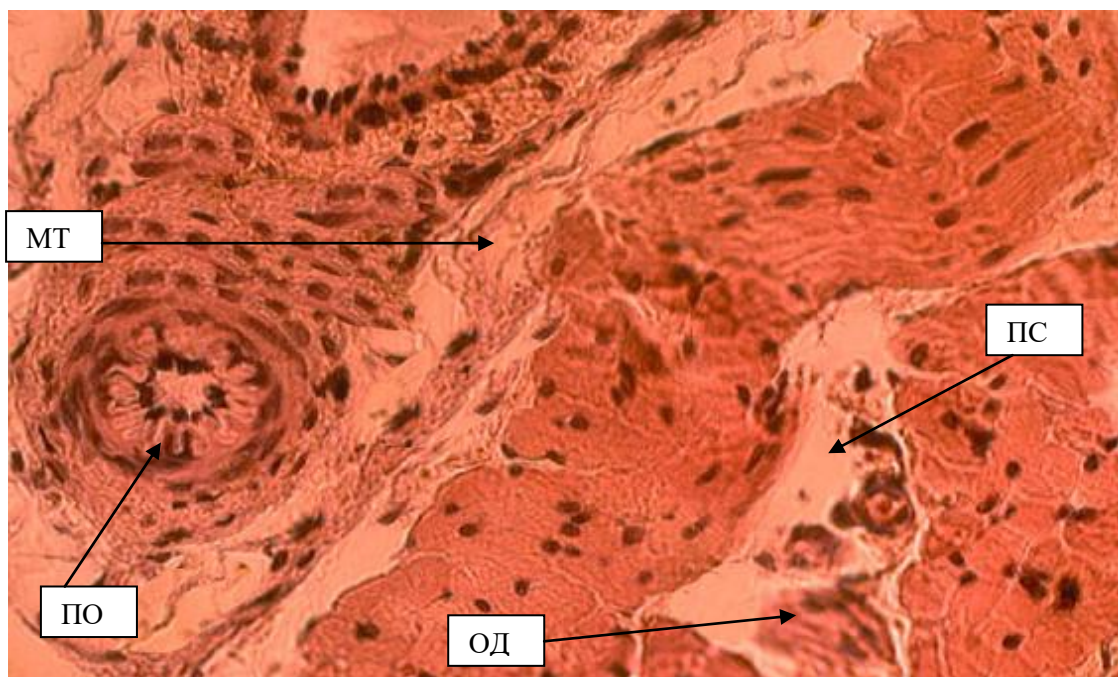
На фоне введения комплекса препаратов «тималин + витамин Е» относительный коэффициент массы лимфатического узла по отношению к

группе, подвергшихся хроническому стрессу, увеличивается на 75% у молодых крыс ( $P < 0,05$ ), на 33% у половозрелых животных ( $P < 0,05$ ), и у старых крыс показатель вырос на 67% ( $P < 0,05$ ) (таблицы 16, 17, 18).

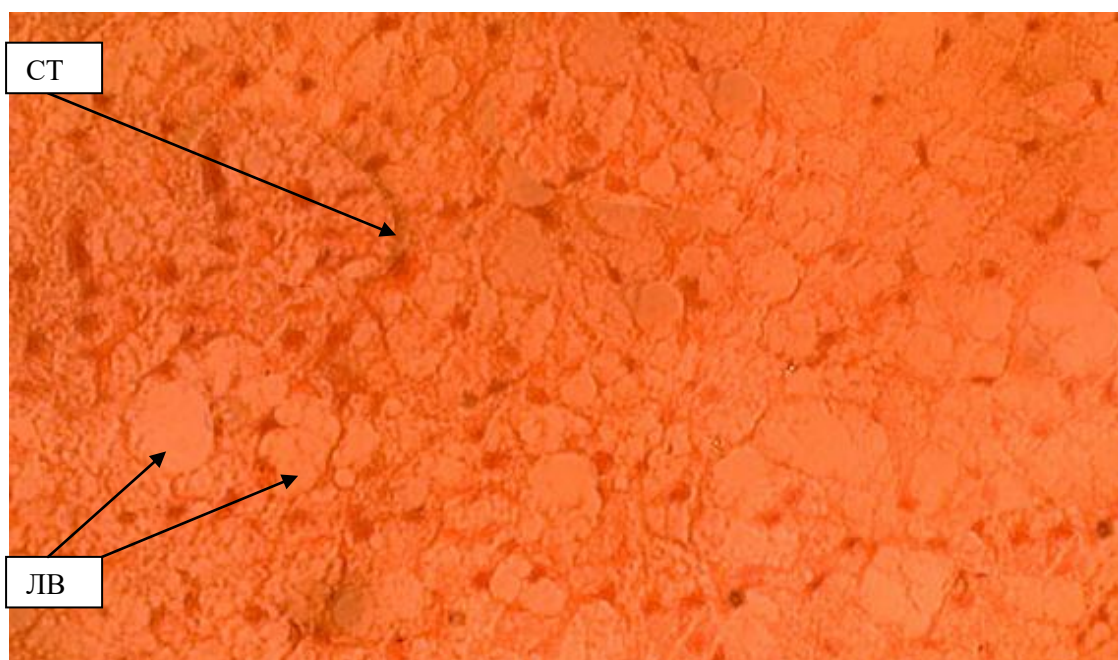
В условиях сочетания стресса с введением комплекса препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата происходит повышение функциональной активности лимфоцитов во всех возрастных группах, с наибольшим проявлением ее у неполовозрелых и старых крыс, о чем косвенно свидетельствует увеличение показателя площади ядер лимфоцитов в паракортикальной зоне лимфатического узла.

Если у половозрелых особей этот показатель вырос, на 13,2% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с группой того же возраста, получавшей ССГ, то у молодых крыс отмечено повышение площади ядер лимфоцитов на 15,6% ( $P < 0,05$ ). Максимальное увеличение показателя зарегистрировано у старых животных: на 16,6% ( $P < 0,05$ ), в сравнении с группой получавшей ССГ (рис. 137). При сравнительном анализе возрастных особенностей активности ткани пахового лимфатического узла при сочетании стресса с введением комплекса «тималин + витамин Е» обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер лимфоцитов молодых животных существенно выше этого же показателя в группе старых крыс на 34,9% ( $P < 0,01$ ) и больше площади ядер лимфоцитов половозрелых животных на 26,6% ( $P < 0,001$ ). Необходимо отметить, что этот же показатель у половозрелых крыс выше, чем у старых животных на 11% ( $P < 0,01$ ).

Сравнивая морфометрические показатели площади ядер лимфоцитов всех возрастных групп, получавших серосодержащий газ на фоне введения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата с контрольными значениями, необходимо так же отметить положительную динамику в функциональной активности ткани пахового лимфатического узла.



**Рис. 142** Ткань пахового лимфоузла половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилин-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: ПС-полнокровие сосудов, ПО – периваскулярный отек с явлениями склероза сосудистой стенки, ОД – очаг диапедеза, МТ- мозговые тяжи)



**Рис. 143** Ткань пахового лимфоузла старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилин-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: СТ – умеренная коллагенизация ткани, ЛВ-липидные включения)

Воздействие комплексом «тималин +  $\alpha$ -токоферола ацетат» на стрессированных животных вызывает достоверный подъем площади ядер

лимфоцитов. Так, в паракортикальной зоне узла у молодых крыс отмечено увеличение показателя на 3% по сравнению с контрольным значением ( $P<0,01$ ), у старых животных подъем зарегистрирован на 4,8% в сравнении с контролем ( $P<0,001$ ), а максимальное повышение данного показателя отмечено у половозрелых особей на 5% ( $P<0,001$ ) (рис. 137).

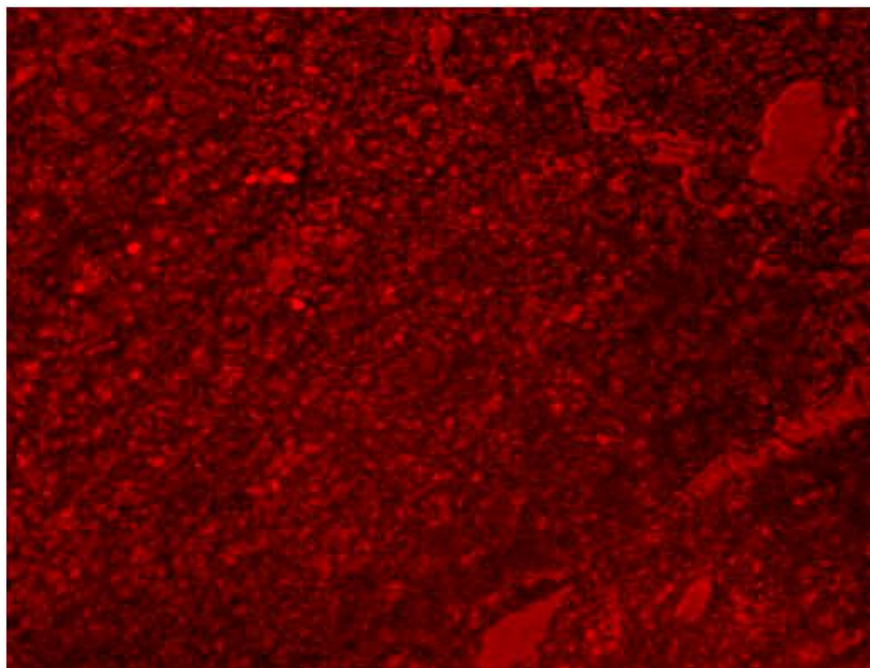
Анализ полученных результатов в эксперименте, свидетельствует, что сочетание стресса и комплекса препаратов «тималин + витамин Е» оказывает антиапоптотическое действие во всех возрастных группах (рис. 144, 145, 146). Наибольший эффект наблюдался в ткани пахового лимфоузла старых животных, где показатель ниже на 2,5% ( $P<0,01$ ) в сравнении с группой того же возраста, подвергшихся хроническому воздействию ССГ и незначительно меньше на 0,4% в сравнении с контролем ( $P<0,05$ ). У неполовозрелых и половозрелых крыс отмечается снижение изучаемого показателя на 1,7% ( $P<0,05$ ) и 1,8% ( $P<0,01$ ) соответственно в сравнении с группами того же возраста животных, подвергшихся хроническому стрессу. Незначительная положительная динамика зарегистрирована и в сравнении с контрольным значением групп тех же возрастов, где отмечается снижение данного показателя на 0,3% у молодых и на 0,8% ( $P<0,05$ ) у половозрелых животных (таблица 46).

Сравнивая показатели всех возрастных групп стрессированных животных на фоне применения комплекса тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата необходимо отметить, что у старых крыс количество апоптотических клеток на 2% выше, чем у половозрелых особей ( $P<0,05$ ) и на 2,8% больше по сравнению с молодыми животными ( $P<0,01$ ). В то же время у половозрелых крыс этот показатель незначительно выше, чем у молодых животных всего на 0,5%.

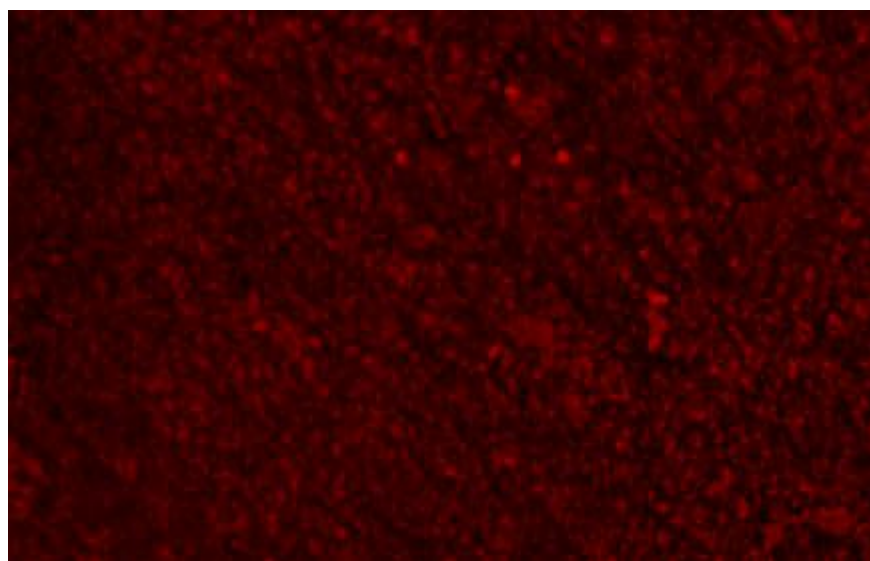
В онтогенетическом аспекте наблюдаемые структурные перестройки в ткани пахового лимфоузла стрессированных животных на фоне введения комплекса «тималин + витамин Е» характеризуются увеличением площади мозгового вещества, расширением мозговых синусов, в то же время у старых



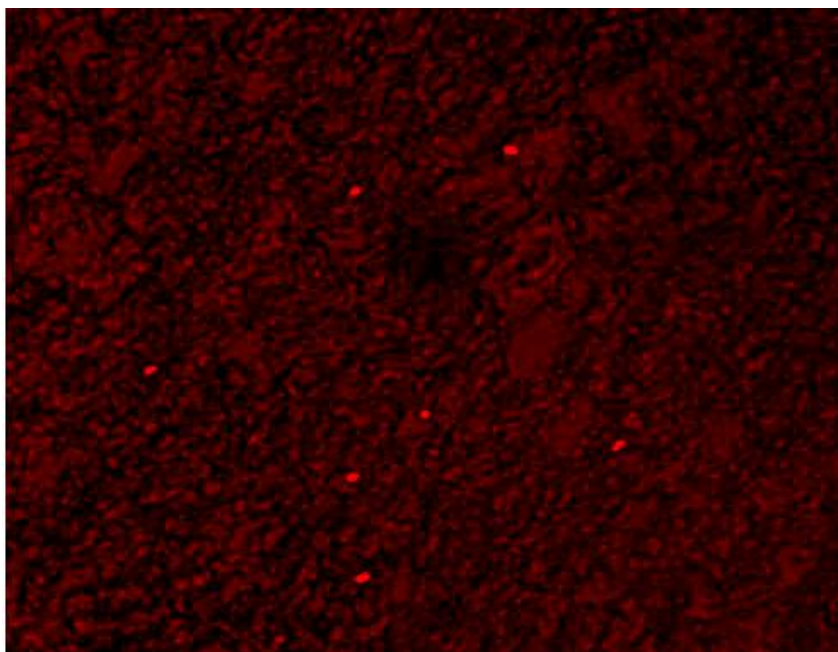
крыс отмечается разрастание соединительной ткани трабекул (рис. 141,142, 143). Наличие таких морфологических изменений в строме изучаемого органа, согласно литературным данным М.Р. Сапина (2012) следует рассматривать как следствие «усиления лимфотока и моторной функции узла».



**Рис. 144** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 145** Апоптозные клетки ткани пахового лимфоузла половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 146** Апоптотические клетки ткани пахового лимфоузла старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

Таким образом, при описанных ранее структурных перестройках в паховом лимфатическом узле в условиях стресса введенный комплекс тималин и витамин Е необходим для поддержания жизнеспособности лимфоцитов, оказывая при этом выраженное антиапоптотическое действие и способствует полноценному восстановлению морфофункциональных нарушений (рис. 140).

Полученные данные свидетельствуют об изменениях реактивности паховых лимфатических узлов с возрастом, о перестройке иммунного статуса растущего, а затем стареющего организма. Комбинированное введение  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина стрессированным животным при хроническом воздействии серосодержащего природного газа способствует коррекции морфофункциональных изменений в ткани паховых лимфоузлов во всех изучаемых возрастных группах.

### **7.3 Возрастные особенности морфофункциональных преобразований селезенки белых крыс**

В наших исследованиях обнаружено, что у молодых крыс относительная масса селезенки составила  $0,59 \pm 0,046$  мг, в группе половозрелых животных она увеличивается до  $0,87 \pm 0,050$  мг и в дальнейшем, у старых крыс, вновь масса повышается, достигая максимума:  $0,96 \pm 0,046$  мг (таблица 16, 17, 18).

При микроскопии селезенки всех возрастных групп в паренхиме определяется четко выраженная белая и красная пульпа, при этом в ткани неполовозрелых животных отмечается преобладание площади белой пульпы, а у половозрелых животных наблюдается незначительное сокращение ее доли. У старых крыс белая пульпа занимает незначительный объем, но в ткани селезенки этой возрастной группы нарастает площадь красной пульпы.

Белая пульпа представляет собой скопление округлых лимфоидных узелков (фолликулов), располагающихся вокруг центральных артерий, вышедших из соединительнотканых трабекул в паренхиму органа. Диаметр лимфоидных фолликулов колеблется от 0,4 - 0,5 мм у молодых животных, 0,7 - 0,9 мм составляет у половозрелых крыс и размер в дальнейшем уменьшается до 0,3 - 0,4 мм у старых крыс. Эти образования содержат Т- и В-зоны. В центре размножения фолликулов располагаются в один два ряда лимфоциты на разных стадиях развития с крупными ядрами и высокодисперсным хроматином, наблюдается также присутствие фолликулярных отростчатых клеток в составе узелков селезенки животных всех изучаемых возрастных групп. Согласно литературным данным (Сапин М.Р., Никитюк Д.Б., 2000; Сапин М.Р., 2012) – это В-зона. Она имеет более светлую окраску на всех препаратах органа вне зависимости от возраста крыс, по сравнению с периферией фолликулов. Тимусзависимая (Т-зона) лимфоидных узелков представлена скоплением Т-лимфоцитов вокруг центральной артерии, выходящей из трабекулы и занимающей эксцентрическое положение относительно центра фолликула. Т-зона содержит большое количество

средних лимфоцитов, цитоплазма которых занимает большую площадь с пылевидным хроматофильным веществом, наблюдаемое у животных всех возрастных групп. Площадь ядер лимфоцитов этой зоны составляет в среднем: у молодых крыс  $130,40 \pm 1,60$  мкм<sup>2</sup>, у половозрелых -  $106,95 \pm 1,85$  мкм<sup>2</sup>, у старых животных  $92,87 \pm 1,83$  мкм<sup>2</sup> (таблица 47). При сравнении возрастных особенностей изменения этого показателя у крыс интактных животных обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер у неполовозрелых животных на 28,8% ( $P < 0,001$ ) больше площади ядер старых крыс и на 18% выше, чем у половозрелых животных ( $P < 0,01$ ). В то же время, площадь ядер интактных половозрелых крыс существенно превышает этот же показатель у старых животных на 13% ( $P < 0,01$ ). Зарегистрированные изменения свидетельствуют о возрастных особенностях интенсивности функционирования ткани селезенки.

**Таблица 47**

Динамика площади ядер лимфоцитов в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные (мкм <sup>2</sup> )	Половозрелые животные (мкм <sup>2</sup> )	Старые животные (мкм <sup>2</sup> )
К	$130,40 \pm 1,60$	$106,95 \pm 1,85^{\Delta\Delta}$	$92,87 \pm 1,83^{\Delta\Delta\Delta}$
ССГ	$110,90 \pm 1,4^{***}$	$94,30 \pm 1,70^{***\Delta\Delta}$	$84,90 \pm 1,46^{***\Delta\Delta}$
ССГ+АО	$127,50 \pm 1,01^{\diamond\#\#}$	$114,18 \pm 1,45^{\diamond\#\#\Delta\Delta}$	$98,42 \pm 1,96^{\diamond\#\#\Delta\Delta}$

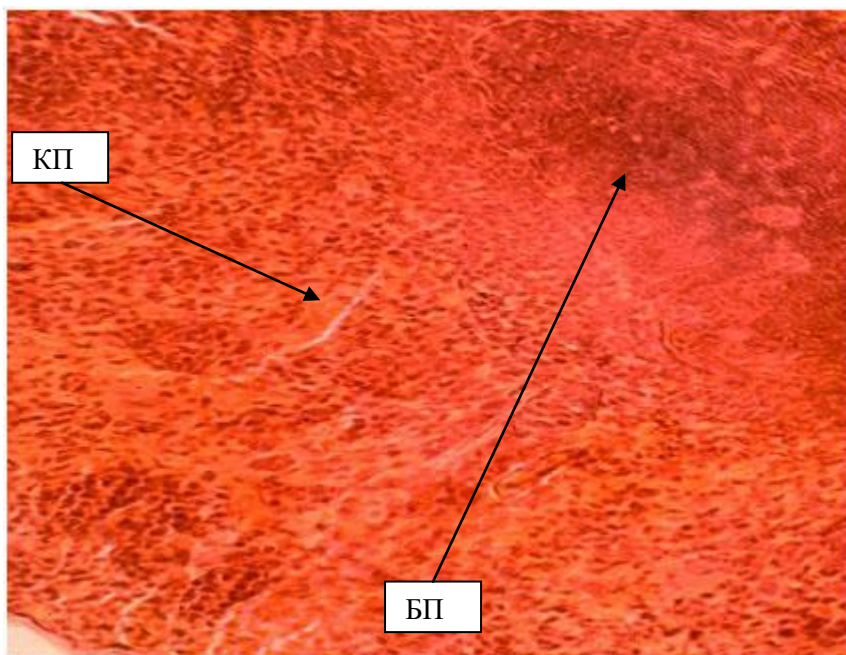
*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем;  $\diamond p < 0,05$ ,  $\diamond\diamond p < 0,01$  и  $\diamond\diamond\diamond p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО;  $\Delta p < 0,05$ ,  $\Delta\Delta p < 0,01$  и  $\Delta\Delta\Delta p < 0,001$  в сравнении с разными возрастными группами; \* $\diamond\#\Delta$  - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (*t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)

Вокруг лимфоидных узелков располагается маргинальная зона, состоящая из многочисленных кровеносных синусов и рыхлой лимфоидной ткани. В ней обнаруживаются единичные лимфоциты.

Красная пульпа в морфологической картине всех возрастных групп представлена селезеночными тяжами и синусоидами (рис. 147, 148, 149).

Селезеночные тяжи образованы сетью ретикулярных клеток, которые поддерживаются ретикулярными волокнами. Между селезеночными тяжами

располагаются неправильной формы широкие синусоиды, которые выстланы удлинненными эндотелиальными клетками, продольная ось которых располагается параллельно оси синусоидов.



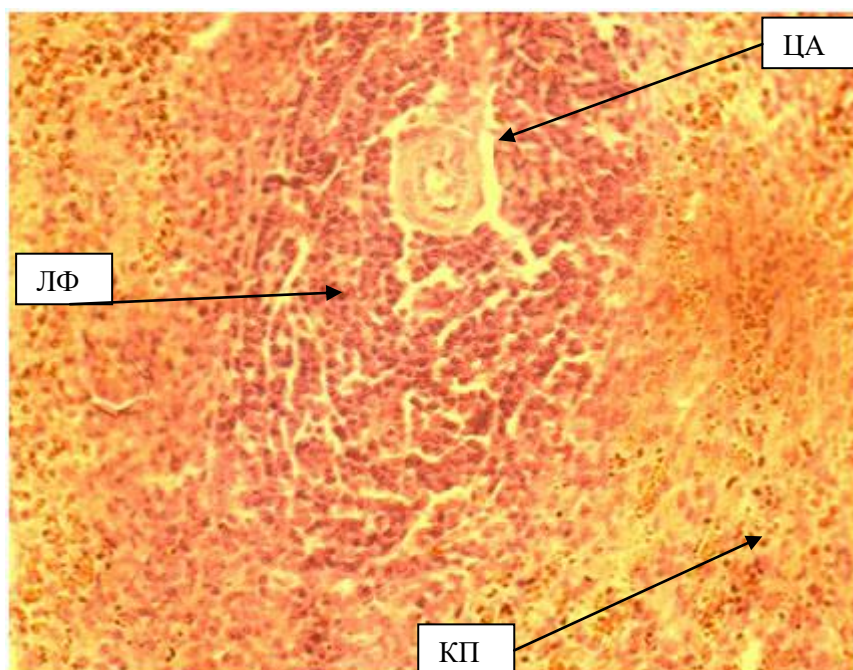
**Рис. 147 Ткань селезенки неполовозрелых крыс в контроле (Окраска гематоксином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: КП – красная пульпа, БП – белая пульпа, формирование лимфатического фолликула)**

Эти клетки окружены ретикулярными волокнами, ориентированными преимущественно в поперечном направлении. Согласно литературным данным (Инаков А.К., 1983; Сапин М.Р., Никитюк Д.Б., 2000; Сапин М.Р., 2012; Петренко В.М., 2012), именно такая структурная организация красной пульпы обеспечивает депонирование крови и способствует элиминации из стромы дефектных и старых клеточных элементов.

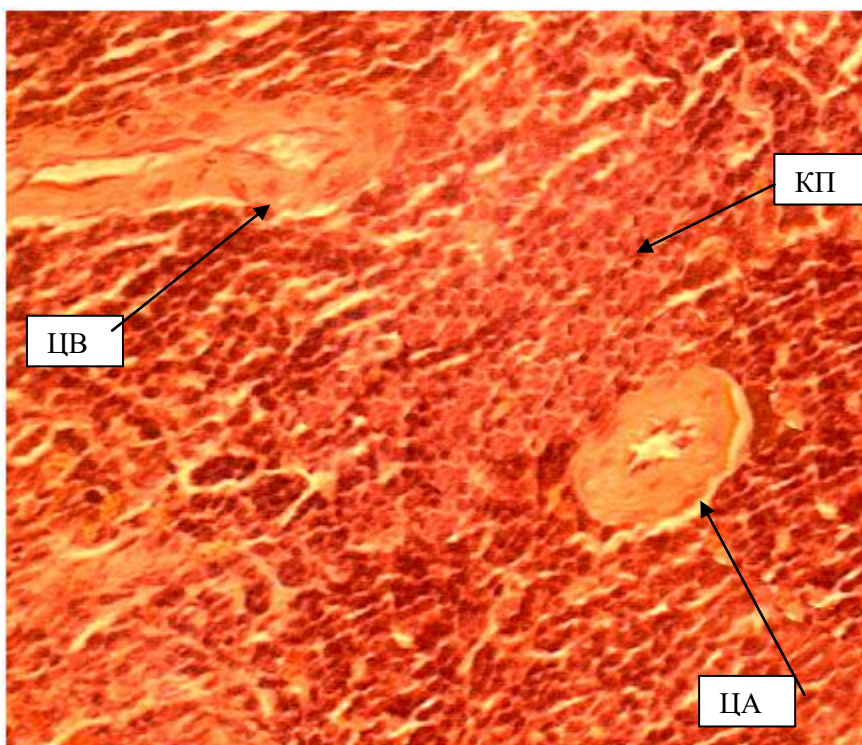
В ходе исследования было установлено, что количество апоптозных клеток в контроле неодинаково, и с возрастом имеет тенденцию к увеличению, так у молодых животных этот показатель составил  $6,72 \pm 0,346$ , у половозрелых –  $8,16 \pm 0,293$ , а у старых крыс достиг максимального значения –  $9,02 \pm 0,342$  (таблица 48).

Таким образом, в постнатальном онтогенезе селезенки на фоне увеличения ее размеров, наблюдается снижение объема белой пульпы у

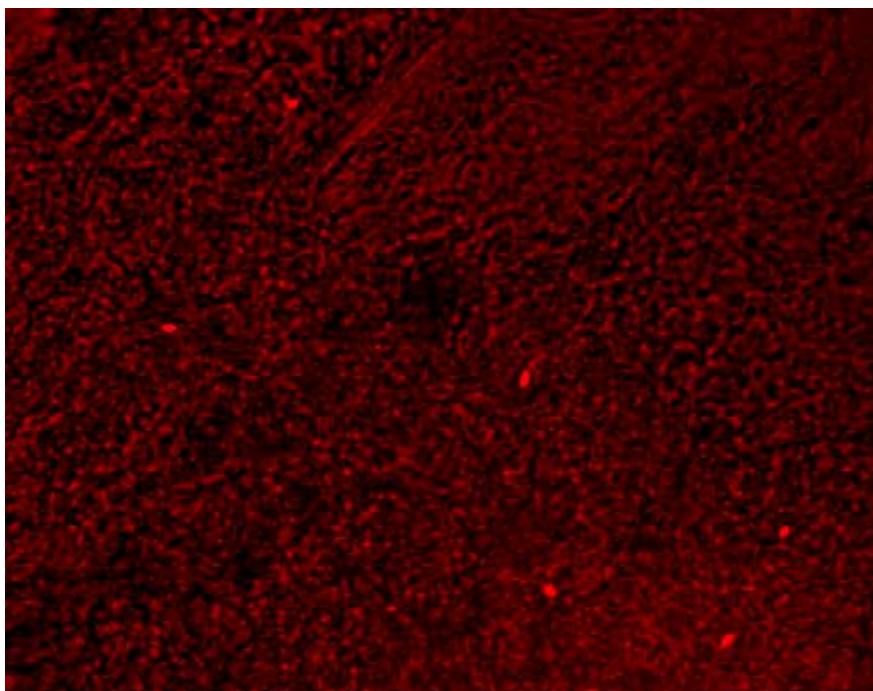
старых крыс и нарастание площади красной пульпы. С возрастом животных становятся особенно широкими селезеночные тяжи и синусоиды.



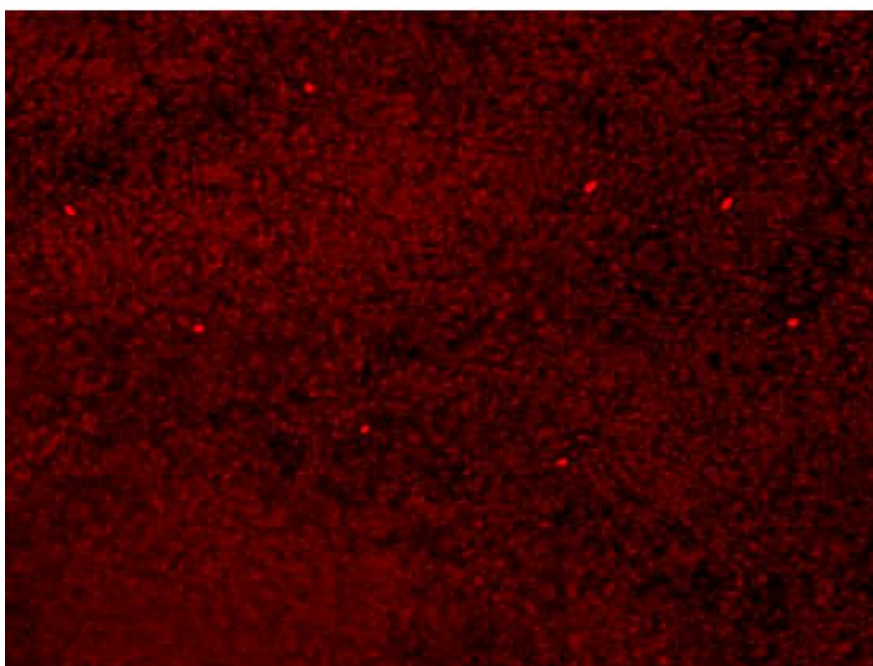
**Рис. 148** Ткань селезенки половозрелых крыс в контроле (Окраска гематоксином-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: КП – красная пульпа, ЛФ – лимфотический фолликул, ЦА – центральная артерия)



**Рис. 149** Ткань селезенки старых крыс в контроле (Окраска гематоксином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: КП – красная пульпа, ЦВ – центральная вена и ЦА – центральная артерия, с утолщениями стенок сосудов, формирование периваскулярного склероза)

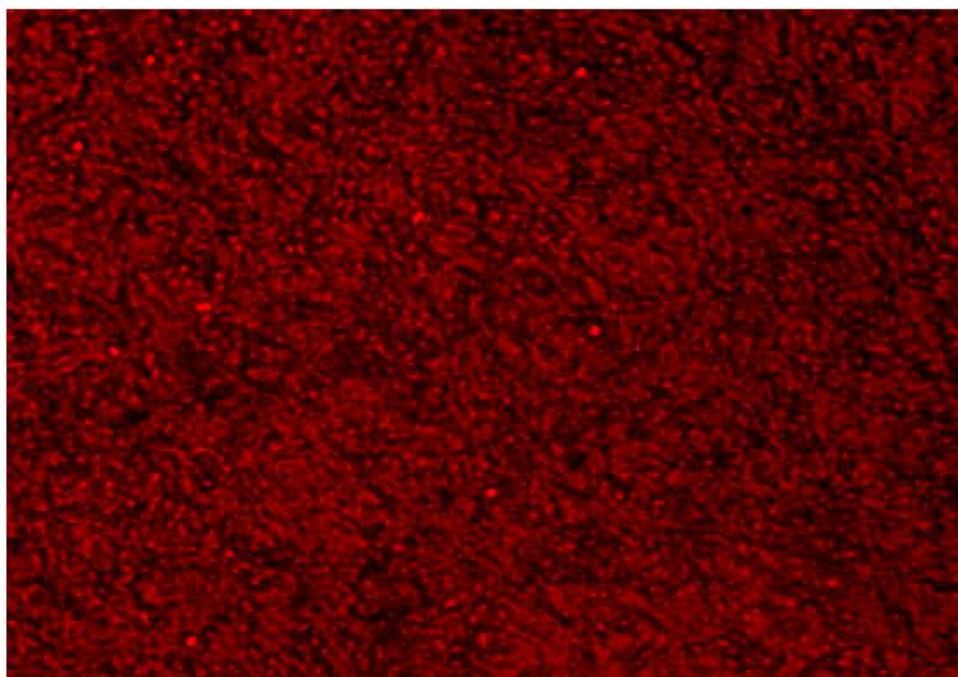


**Рис. 150** Апоптозные клетки ткани селезенки неполовозрелых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 151** Апоптозные клетки ткани селезенки половозрелых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

Возрастные изменения затрагивают в большей степени строму белой пульпы, уменьшая ее плотность. Структурные перестройки в строме красной пульпы старых животных сопровождаются формированием внутрисосудистого и периваскулярного склероза (рис. 149).



**Рис. 152** Апоптотные клетки ткани селезенки старых крыс в контроле (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

С возрастом снижается количество герминативных центров, происходит заметное изменение площади цитоплазмы и размеров ядер лимфоцитов, что косвенно свидетельствует о снижении функциональной активности этих клеток. Наблюдается интенсификация апоптоза: так, у старых интактных крыс на 2,3% ( $P < 0,01$ ) показатель выше, чем у молодых животных и на 0,9% ( $P < 0,05$ ) больше, чем у половозрелых крыс (рис. 150, 151, 152).

**Таблица 48**

Количество апоптотных клеток в ткани селезенки в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

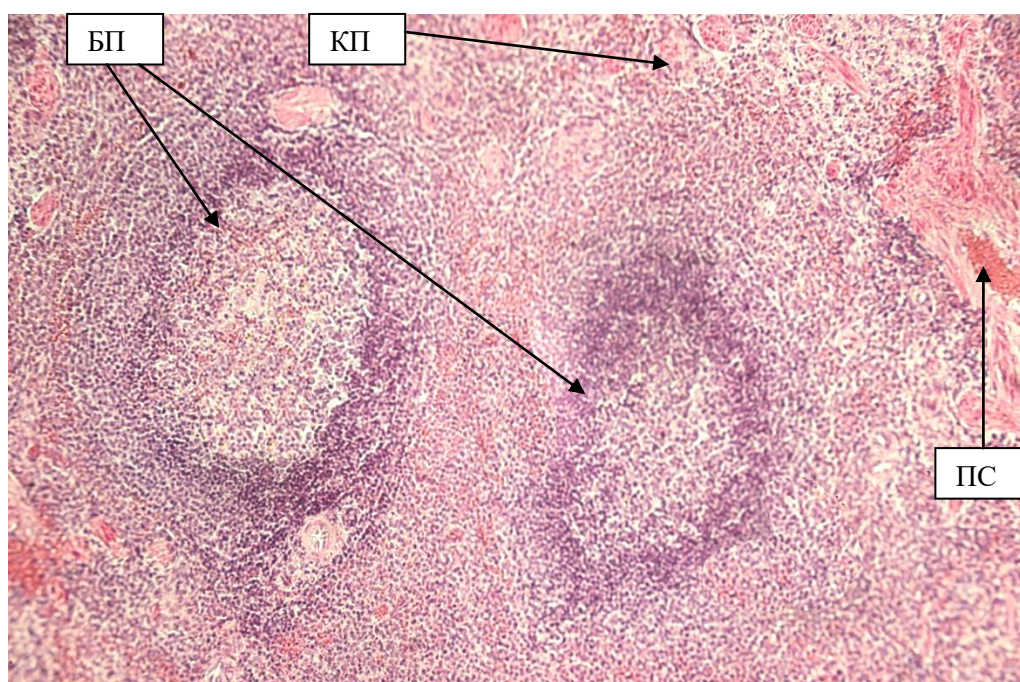
Группа (n=10)	Молодые (неполовозрелые) животные, %	Половозрелые животные, %	Старые животные, %
К	6,72±0,346	8,16±0,293 <sup>ΔΔ</sup>	9,02±0,342 <sup>ΔΔ</sup>
ССГ	9,78±0,621 <sup>***</sup>	9,04±0,461 <sup>*Δ</sup>	12,39±0,638 <sup>***ΔΔ</sup>
ССГ+АО	6,58±0,351 <sup>◊◊◊#</sup>	7,59±0,417 <sup>◊◊#Δ</sup>	8,9±0,435 <sup>◊◊◊#ΔΔ</sup>

*Примечание:* \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  и \*\*\* $p < 0,001$  в сравнении с контролем; ◊ $p < 0,05$ , ◊◊ $p < 0,01$  и ◊◊◊ $p < 0,001$  в сравнении группы, получавшей ССГ с подгруппой ССГ + АО; # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  и ### $p < 0,001$  в сравнении контрольной группы с подгруппой получавшей ССГ + АО; Δ $p < 0,05$ , ΔΔ $p < 0,01$  и ΔΔΔ $p < 0,001$  в сравнении с разными возрастными группами; \*◊#Δ - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)



При хроническом воздействии природного газа АГКМ, содержащего сероводород в концентрации  $90 \text{ мг/м}^3$ , происходит достоверное уменьшение относительного коэффициента массы селезенки по отношению к контролю: у старых крыс на 32%, у половозрелых особей отмечено снижение показателя на 16% ( $P < 0,001$ ), а у неполовозрелых животных зарегистрировано максимальное изменение значения этого показателя на 61% ( $P < 0,05$ ) (таблицы 16, 17, 18).

На фоне стресса в ткани селезенки у всех возрастных групп наблюдаются морфологические изменения, более выраженные у молодых и старых крыс. Одним из показателей ответной реакции на токсическое стрессовое воздействие является изменение уровня апоптоза лимфоцитов.

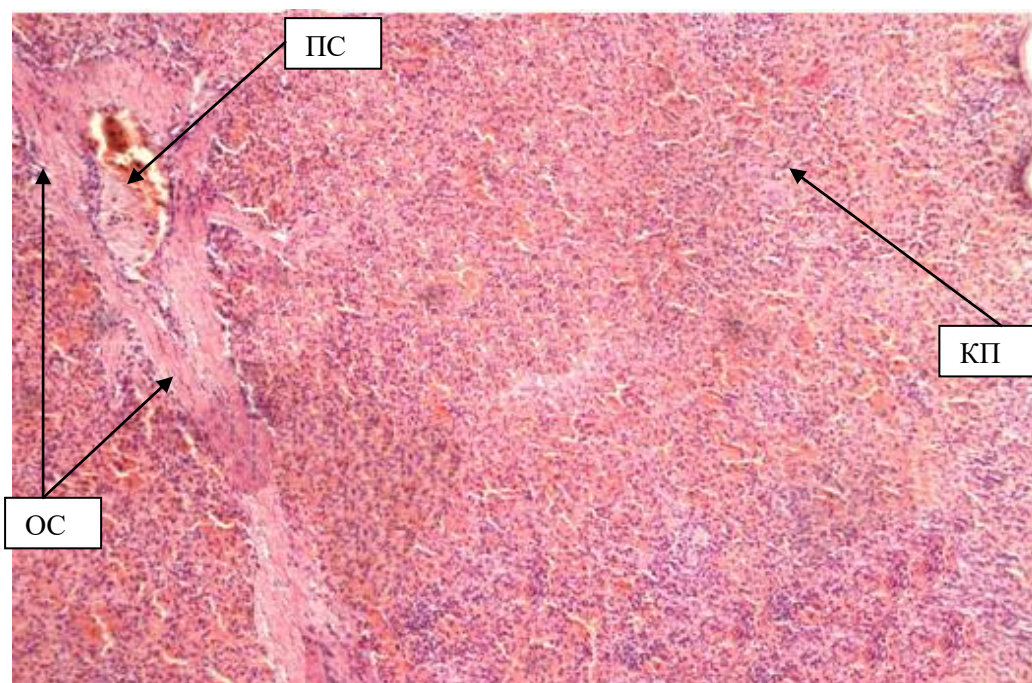


**Рис. 153 Ткань селезенки неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: БП – белая пульпа, формирование лимфатических фолликулов, КП – красная пульпа, ПС – полнокровие сосудов)**

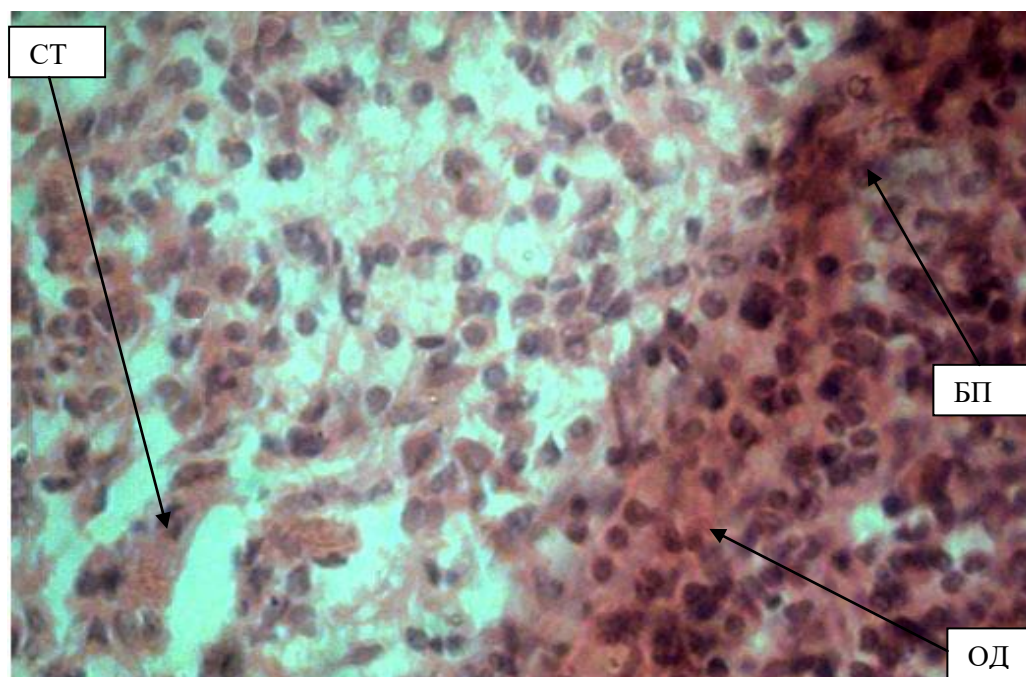
Так, у экспериментальных животных, подвергшихся воздействию серосодержащим газом АГКМ, зарегистрировано увеличение количества апоптозных клеток во всех возрастных группах (рис. 156, 157, 158).

В ткани селезенки стрессированных крыс наибольшее количество апоптозных клеток наблюдалось у неполовозрелых и старых животных, где

показатель вырос на 3% и 3,4% соответственно в сравнении с контрольным значением ( $P < 0,001$ ). У половозрелых особей данный показатель увеличился в среднем лишь на 0,9% (рис. 160).

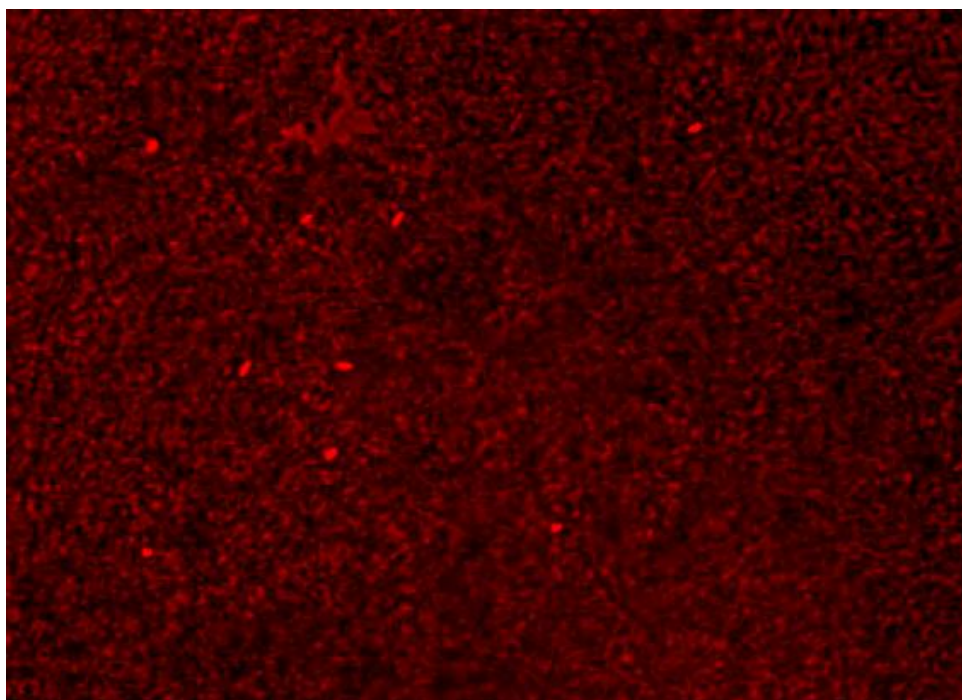


**Рис. 154** Ткань селезенки половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ПС – полнокровие сосудов, КП – красная пульпа, ОС – отечность и утолщение стенки сосуда, формирование внутрисосудистого и периваскулярного склероза)



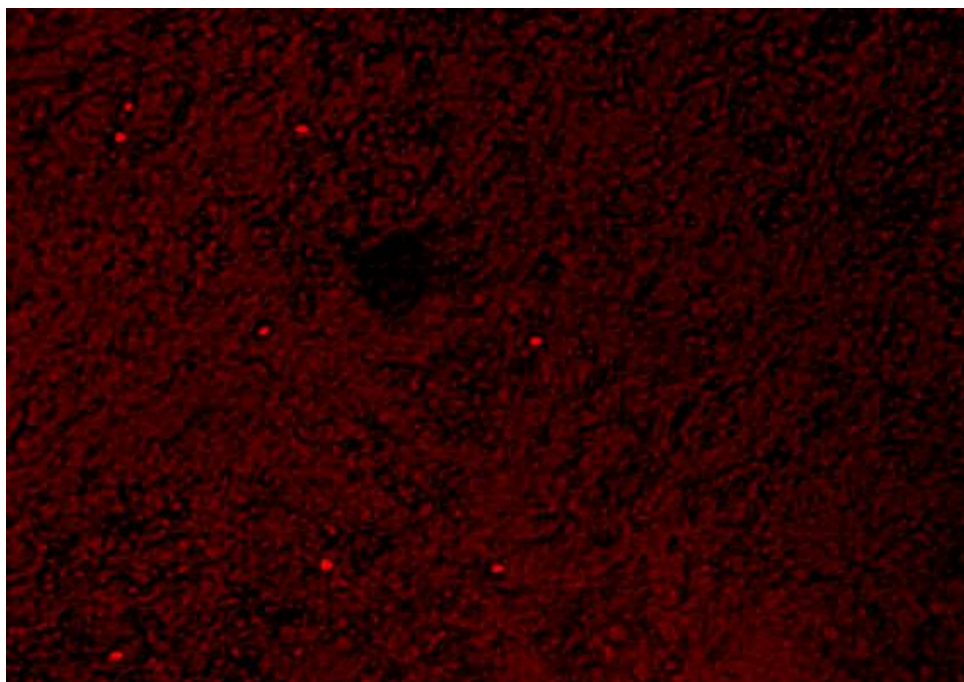
**Рис. 155** Ткань селезенки старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X200), (показано стрелками: ОД – очаги диапедеза, БП – участок маргинальной зоны белой пульпы, СТ – коллагенизация ткани)

При сравнении возрастных особенностей изменения этого показателя у стрессированных крыс обращает на себя внимание тот факт, что в условиях гипоксии, вызванной воздействием природного газа, у старых крыс количество апоптозных клеток на 3,4% выше, чем у половозрелых особей ( $P < 0,01$ ) и на 2,6% больше по сравнению этого показателя с молодыми животными ( $P < 0,01$ ). У стрессированных половозрелых крыс зарегистрировано наименьшее количество апоптозных клеток, чем у молодых и старых животных (таблица 48), что свидетельствует о большей стрессоустойчивости гистологической структуры ткани селезенки данной возрастной группы.

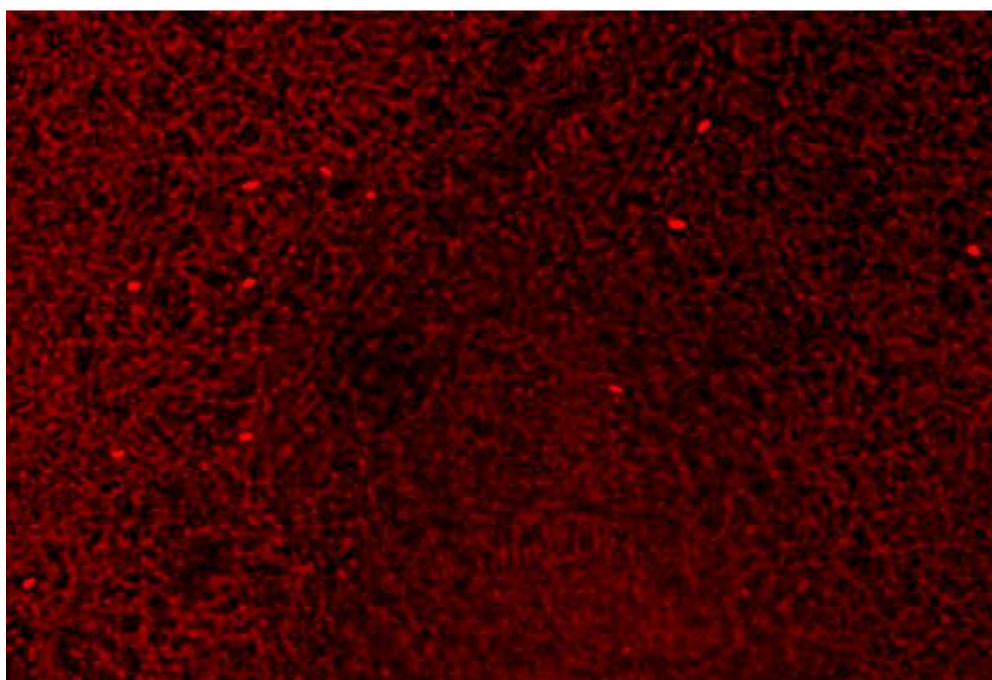


**Рис. 156** Апоптозные клетки ткани селезенки неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

В условиях стресса апоптотические изменения происходят при наблюдаемых нами морфофункциональных перестройках в органе. На фоне развивающейся гипоксии во всех возрастных группах определяется полнокровие сосудов (рис. 153, 154, 155).



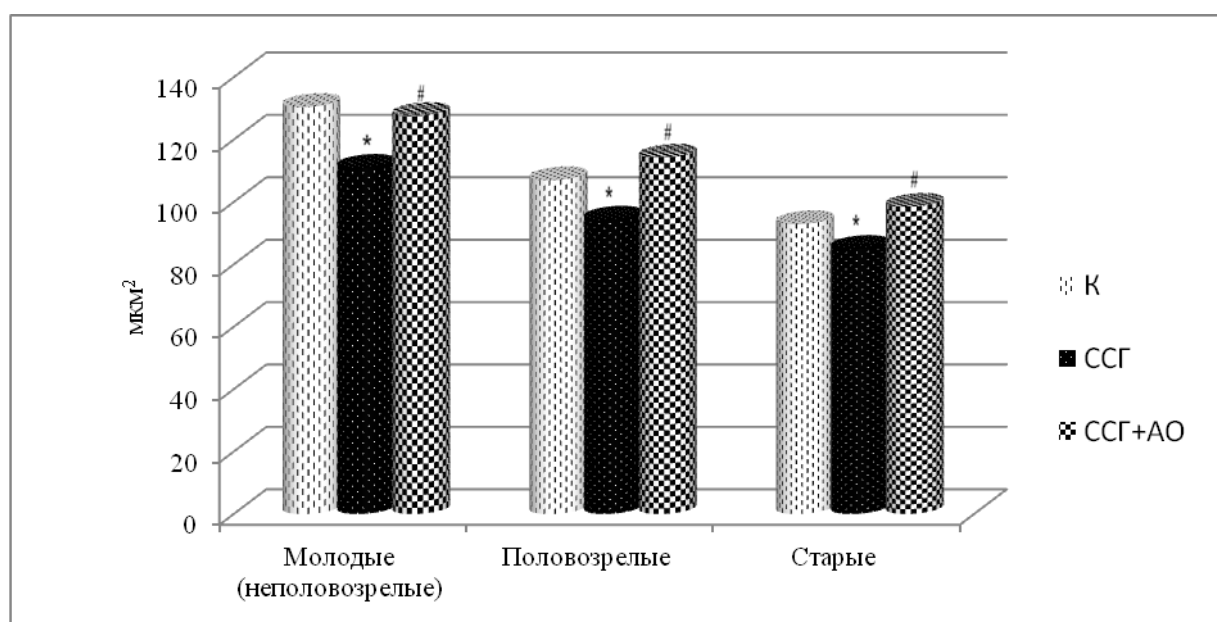
**Рис. 157** Апоптозные клетки ткани селезенки половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 158** Апоптозные клетки ткани селезенки старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

Выявленное в ткани неполовозрелых крыс снижение площади белой пульпы обусловлено сокращением диаметра лимфоидных узелков в среднем до 0,2мм. Нами обнаружено уменьшение числа лимфоцитов в герминативных

центрах, при этом лимфоциты теряют компактность своего расположения. При гипоксии в морфологической картине ткани селезенки у половозрелых животных зарегистрировано снижение показателя общей площади среза почти в 1,5 раза. Данные изменения происходят за счет сокращения площади как красной, так и белой пульпы. В селезенке старых крыс наблюдается увеличение общей площади среза и площади красной пульпы в 2 раза, по сравнению с контролем.

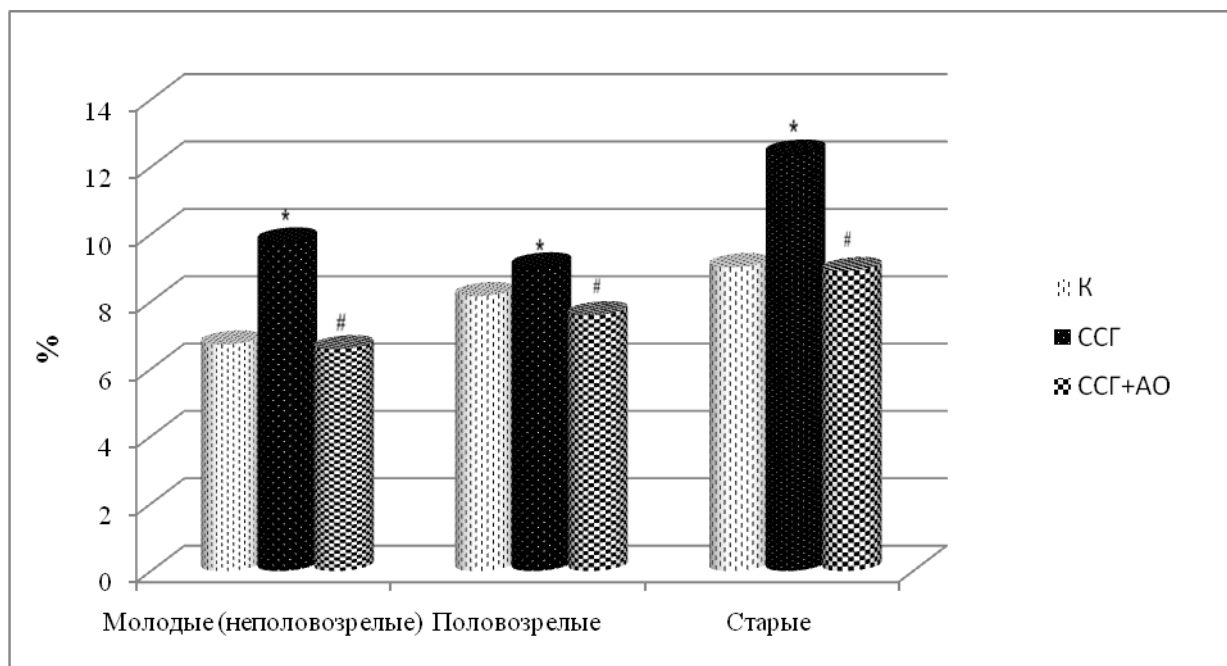


**Рис. 159** Динамика площади ядер лимфоцитов селезенки в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

Под действием стресса во всех изучаемых группах животных в цитоплазме лимфоцитов тимусзависимой зоны (Т-зоны) происходит измельчение и распад глыбок хроматофильного вещества по сравнению с контролем, отмечается снижение функциональной активности в ткани. Косвенным подтверждением этого процесса является снижение показателя площади ядер лимфоцитов.

Так, наибольшее изменение размера ядер наблюдается у молодых и половозрелых крыс, где уменьшение изучаемого показателя составило 15% и 11,8% соответственно по сравнению с контрольным значением ( $P < 0,001$ ), у старых особей площадь ядер лимфоцитов в среднем снижается на 8,6% в сравнении с контролем ( $P < 0,001$ ) (рис. 159).



**Рис. 160** Количество апоптозных клеток в ткани селезенки в постнатальном онтогенезе крыс в норме, при воздействии природного газа и в условиях применения комплекса антиоксидантов на фоне стресса

*Примечание: \* и # - значимые различия ( $p < 0,05$ ) между подгруппами (t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони и Ньюмена-Кейлса для множественных сравнений)*

При сравнении возрастных особенностей изменения этого показателя у стрессированных крыс обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер у неполовозрелых животных на 23% больше площади ядер старых крыс ( $P < 0,001$ ) и на 15% выше, чем у половозрелых животных ( $P < 0,001$ ). В то же время, площадь ядер половозрелых крыс при гипоксии существенно превышает этот же показатель у старых животных на 10% ( $P < 0,01$ ).

Вне зависимости от возраста, во всех структурно-функциональных зонах селезенки в условиях развивающейся гипоксии, наблюдаемой нами, снизилась численность клеток лимфоидного ряда, цитоплазма которых

прокрашивается менее интенсивно, чем на препаратах контрольных групп. Это связано со значительным снижением в их цитоплазме хроматофильного вещества и его распадом (рис. 153, 154, 155).

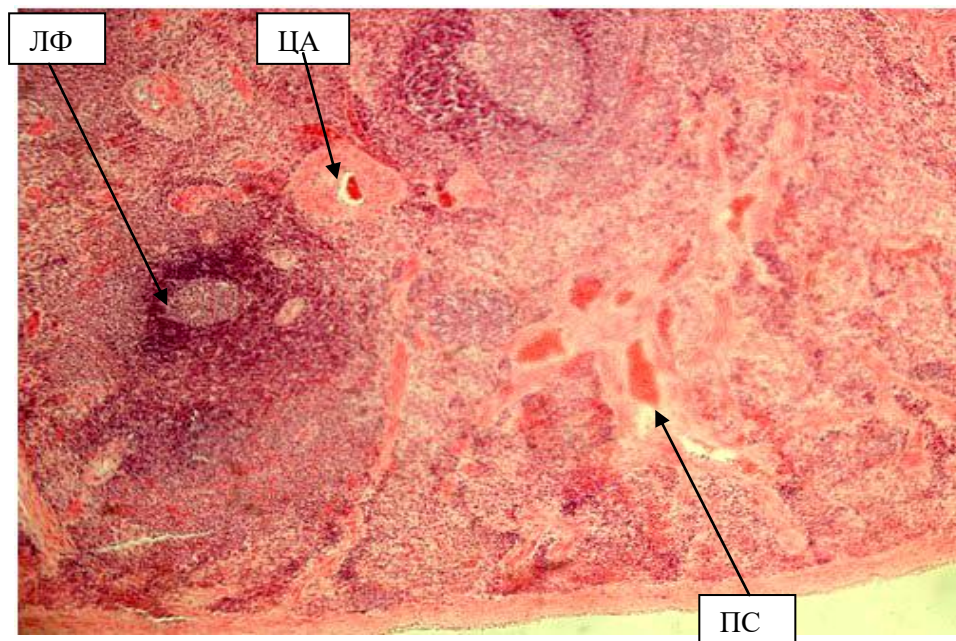
Выявленные структурные перестройки под действием токсического стресса в ткани селезенки можно рассматривать как морфологические критерии, свидетельствующие о снижении ее функциональной активности и детоксикационной функции, особенно выраженные в строме органа неполовозрелых и старых крыс.

На фоне введения препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата относительный коэффициент массы селезенки по отношению к группе, подвергшихся хронической интоксикации, максимально увеличивается в группе молодых крыс - на 113% ( $P < 0,001$ ), в то время как у половозрелых животных рост показателя составил всего на 5,5% ( $P < 0,05$ ), а у старых крыс увеличение этого же показателя произошло на 14% ( $P < 0,001$ ) (таблицы 16, 17, 18).

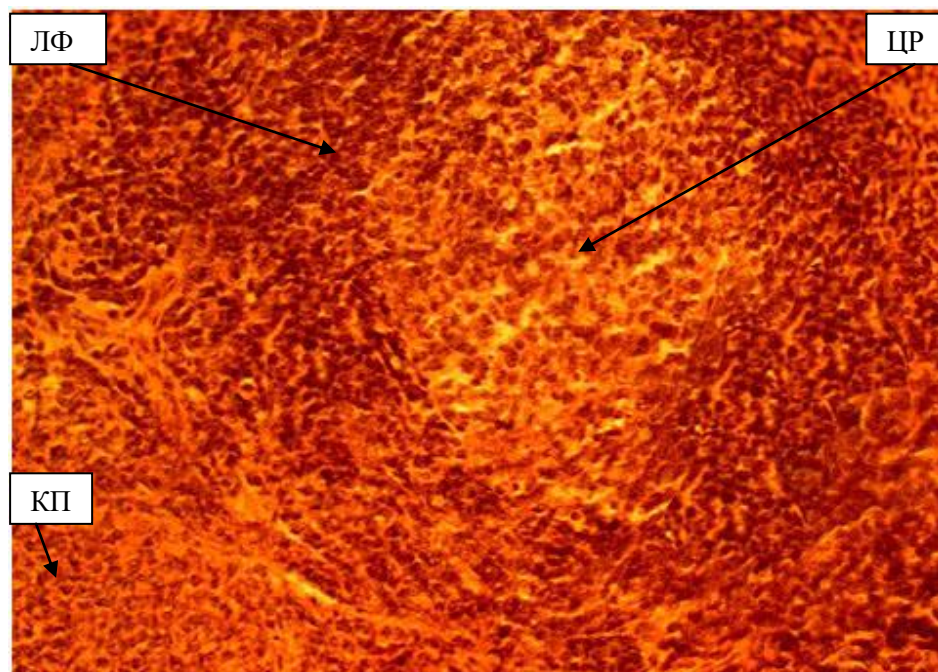
Анализ полученных результатов в эксперименте, свидетельствует, что под действием экзотоксиканта и комплекса «тималин + витамин Е» происходит повышение функциональной активности лимфоцитов во всех возрастных группах, с наибольшим проявлением ее у половозрелых крыс. Косвенным подтверждением этого процесса является зарегистрированное нами увеличение показателя площади ядер лимфоцитов в тимусзависимой зоне белой пульпы селезенки. У неполовозрелых особей этот показатель вырос в среднем на 15% ( $P < 0,05$ ) в сравнении с группой того же возраста, получавшей ССГ, у старых крыс отмечено повышение размера ядер лимфоцитов на 16% ( $P < 0,05$ ), а максимальное увеличение данного показателя зарегистрировано у половозрелых животных на 21% ( $P < 0,05$ ), в сравнении с группой получавшей ССГ (рис. 159).

При анализе возрастных особенностей активности ткани селезенки при сочетании токсического стресса с введением препаратов «тималин + витамин Е» обращает на себя внимание тот факт, что площадь ядер лимфоцитов

молодых животных существенно выше этого же показателя в группе старых крыс на 23% ( $P < 0,001$ ) и больше площади ядер лимфоцитов половозрелых животных на 10,5% ( $P < 0,01$ ).

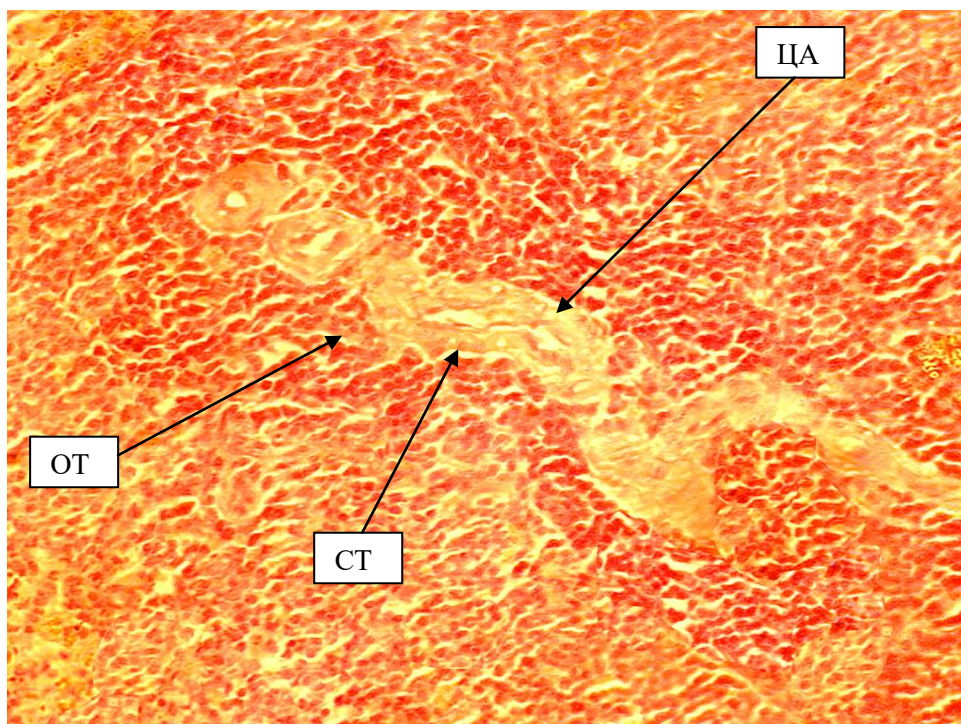


**Рис. 161** Ткань селезенки неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100). (показано стрелками: ПС – полнокровные сосудов, ЛФ – формирование лимфатического фолликула, ЦА – центральная артерия с очагами диапедеза)



**Рис. 162** Ткань селезенки половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилином-эозином. Ув. X100). (показано стрелками: КП – красная пульпа, ЛФ – лимфатический фолликул, ЦР - центр размножения герминативного центра)





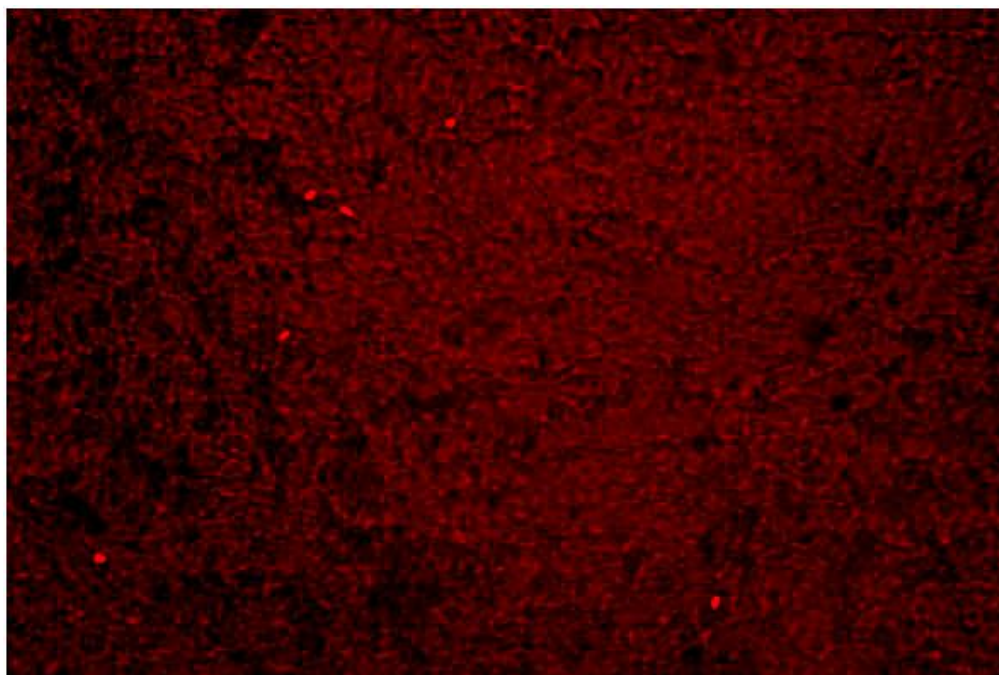
**Рис. 163** Ткань селезенки старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Окраска гематоксилино-эозином. Ув. X100), (показано стрелками: ЦА – центральная артерия с утолщенной стенкой, СТ – формирование внутрисосудистого и периваскулярного склероза, ОТ – зона отечности ткани)

Необходимо отметить, что этот же показатель у половозрелых крыс выше, чем у старых животных на 13,8% ( $P < 0,001$ ).

Сравнивая морфометрические показатели площади ядер лимфоцитов всех возрастных групп, получавших ССГ на фоне введения комплекса препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата с контрольными значениями, необходимо также отметить положительную динамику, свидетельствующую о функциональной активности ткани селезенки. Нами зарегистрирован достоверный подъем площади ядер лимфоцитов в тимусзависимой зоне: у молодых крыс наблюдается увеличение показателя в среднем на 2,2% по сравнению с контрольным значением ( $P < 0,01$ ), у старых животных размер ядер вырос на 6% по сравнению с контролем ( $P < 0,05$ ), а у половозрелых особей зарегистрировано максимальное повышение площади ядер лимфоцитов на 6,8% ( $P < 0,01$ ) (Рис. 159).

Во всех возрастных группах при комбинированном введении тималина и витамина Е было выявлено антиапоптотическое действие препаратов,

зафиксированное нами на фоне структурно-функциональных изменений в ткани селезенки в условиях развивающейся гипоксии.

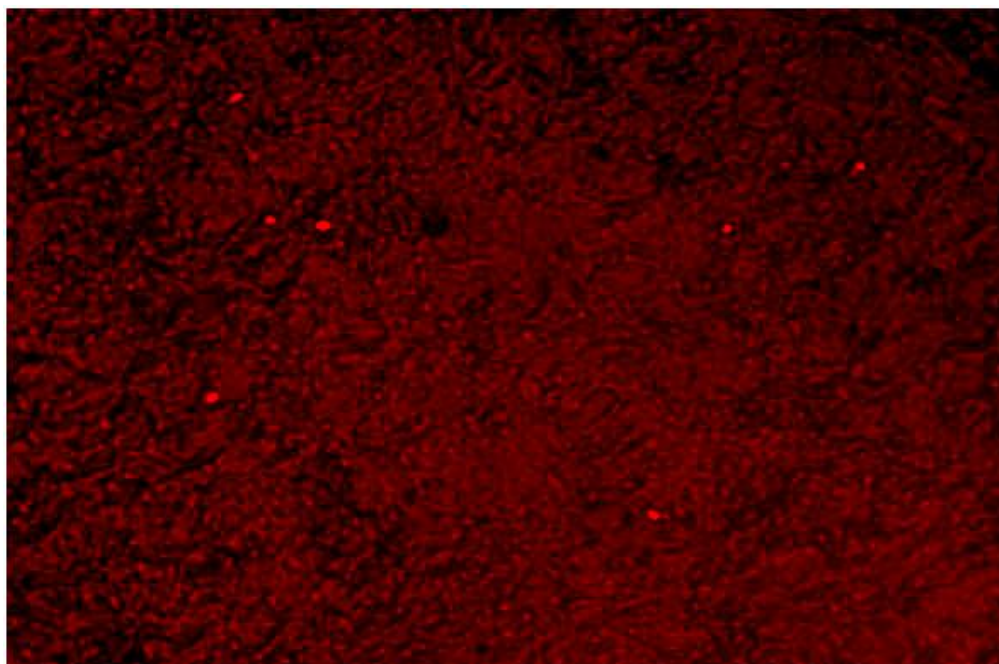


**Рис. 164** Апоптотные клетки ткани селезенки неполовозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

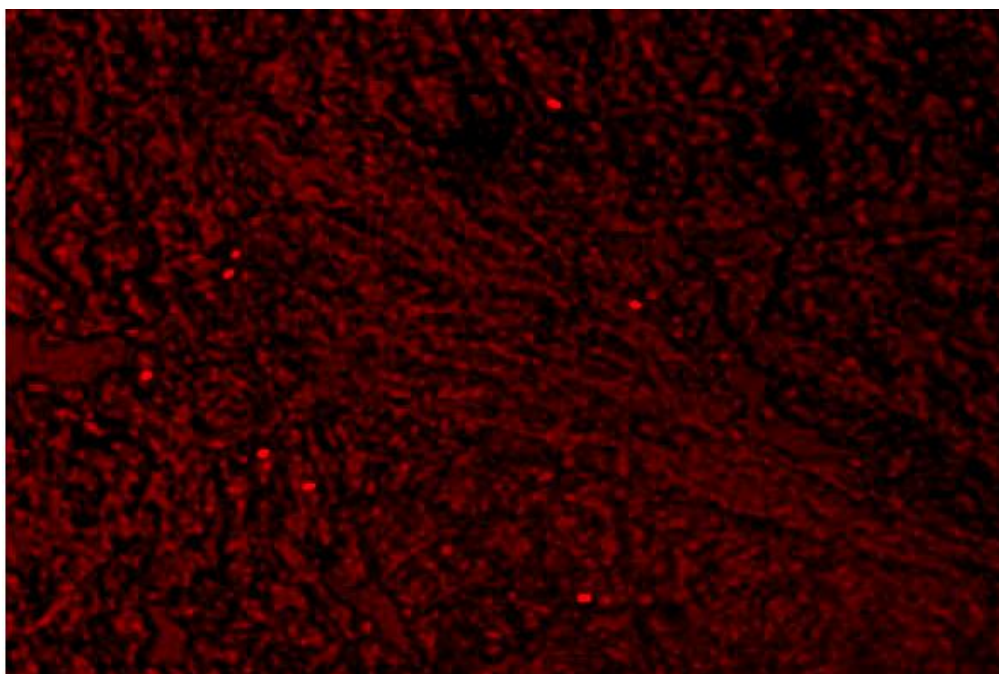
Наибольший эффект наблюдался в ткани селезенки старых животных, где показатель в среднем ниже на 3,5% ( $P < 0,01$ ) в сравнении с группой того же возраста, подвергшихся воздействию ССГ и на 0,12% меньше в сравнении с контролем. У неполовозрелых и половозрелых крыс отмечается также снижение количества апоптотных клеток на 3,2% и 1,5% ( $P < 0,05$ ) соответственно в сравнении с группами того же возраста животных, подвергшихся хронической ингаляции природного газа. Незначительная положительная динамика зарегистрирована и в сравнении с контрольным значением групп тех же возрастов, где отмечается снижение изучаемого показателя на 0,14% у молодых, и на 0,6% у половозрелых животных (рис. 160).

Сравнивая показатели всех возрастных групп стрессированных животных на фоне применения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата необходимо

отметить, что у старых крыс количество апоптозных клеток на 2,3% выше, чем у молодых особей ( $P < 0,01$ ) и на 1,3% больше в сравнении с половозрелыми животными ( $P < 0,01$ ).



**Рис. 165** Апоптозные клетки ткани селезенки половозрелых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).



**Рис. 170** Апоптозные клетки ткани селезенки старых крыс в условиях воздействия сероводородсодержащим газом и введения комплекса антиоксидантов на фоне стресса (Люминесцентная микроскопия. Окраска этидий бромидом. Ув. X100).

В тоже время у половозрелых крыс этот показатель несколько выше, чем у молодых животных, - на 1% ( $P < 0,05$ ).

По всей вероятности, полученные результаты исследований свидетельствуют об истощении резерва функциональных возможностей ткани селезенки у молодых крыс. Под действием стресса на фоне введения препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата в паренхиме селезенки наблюдаются преобразования, затрагивающие в основном структуру белой пульпы (рис. 161, 162, 163). В морфологической картине ткани у всех возрастных групп обнаружено увеличение площади белой пульпы и диаметра лимфоидных узелков: в среднем на 10% и 15% у молодых и старых крыс, а у половозрелых животных на 20% ( $P < 0,05$ ). Данные изменения происходят в основном за счет расширения маргинальной зоны (Т-зоны) узелков, в клеточном составе которой зарегистрировано увеличение числа малых лимфоцитов (почти в 2 раза). Цитоплазма этих клеток содержит глыбки хроматофильного вещества, сконцентрированного около ядра. Описанные структурные изменения в селезенке могут указывать на то, что она находится в состоянии повышенной иммунологической активности.

Таким образом, полученные данные в ходе эксперимента о снижении количества апоптозных клеток в ткани, увеличении относительной объемной плотности элементов белой пульпы, увеличении размера ядер и числа лимфоидных клеток на условной единице площади в герминативных центрах, свидетельствуют о тенденции к нормализации функциональной активности органа в условиях действия ССГ на фоне введения  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина. Обнаруженные изменения в паренхиме селезенки способствуют усилению процессов лимфоцитопоэза и активации ее функции, как органа защиты.

## Заключение

Любой биологический объект существует не только в пространстве, но и во времени (Романов Ю.А., 2001; Чернышева М.П., 2005, 2007). По данным ряда авторов Ф.И. Комарова, С.И. Рапопорта и др. (2017), В.Я. Бродского (2021) биологические ритмы являются главным механизмом регулирующим функции организма, обеспечивают гомеостаз и динамическое равновесие, а так же адаптационные процессы биологических систем.

На основании многочисленных исследований к настоящему времени признана эндогенная природа биологических ритмы и их генетическая регуляция, а так же тесная взаимосвязь с воздействием модифицирующих факторов внешней среды, так называемых датчиков времени (Бродский В.Я., 2021). Такая связь лежит в основе взаимодействия организма и среды, и определяется во многом экологическими закономерностями.

Если околосоточные биологические ритмы обусловлены регулярными изменениями условий внешней среды, то околочасовые колебания – это способ реализации функции самой клетки и являются ее фундаментальным свойством (Загускин С.Л., 2016). Так, при анализе данных полученных в настоящем исследовании наблюдалась выраженная модификация околочасовых осцилляций, которая проявлялась в «сглаживании» кинетической кривой в результате снижения амплитуды колебаний изучаемых белков при стрессогенном воздействии.

Согласно литературным данным (Brodsky V.Y. et al. 2000; Brodsky V.Y., Nechaeva N.V. et al., 2004; Бродский В.Я., 2014), для околочасовых колебаний присутствие не колебательной, линейной кинетики зависит от плотности клеток в ткани и чаще всего обусловлено недостатком в среде синхронизирующих факторов. В отличие от ряда других ритмов, околочасовые колебания адаптивны, способствуют приспособлениям клетки к изменяющимся условиям среды (Бродский В.Я., 2000). Значительно модифицируясь, такие ритмы, тем не менее, сохраняются в весьма разных условиях.

В нашем исследовании впервые маркером функциональной активности плазмы крови и органов иммунной системы в онтогенезе у животных и при стрессе служил окологасовой ритм синтеза общего белка, альбумина и глобулинов. В ходе эксперимента проведено сравнение ритмической активности этих белков в плазме крови, а в органах иммунной системы: общего белка и альбумина при различных функциональных состояниях организмов экспериментальных животных. Колебания содержания общего белка, альбумина и группы глобулинов выявленные нами могут быть охарактеризованы ультрадианными с периодами в 20-40 минут и до 60-80 минут.

Рассматривая возрастные особенности содержания белков плазмы крови, необходимо отметить, что более выраженные изменения метаболической активности выявлены в модификации ритмических кривых общего белка и глобулинов у неполовозрелых и старых животных, как в контроле, так и в условиях эксперимента.

Сероводородсодержащий газ АГКМ во всех группах животных по сравнению с контролем вызывает модификацию окологасовых осцилляций белков плазмы крови, проявляющейся в снижении амплитуды колебательного процесса и в изменении набора периодов колебаний. Так, при условиях гипоксии, индуцированной воздействием природного газа, в плазме крови у неполовозрелых животных зарегистрировано нами выраженное снижение количества общего белка и глобулинов на 23,7% и на 47,4% соответственно при сравнении с контролем. Так же в данной возрастной группе произошло сглаживание кинетической кривой содержания глобулинов, что, вероятно, обусловлено низким уровнем резистентности этих белков к экзогенному токсическому воздействию. Однако, в условиях хронического стресса в плазме крови у молодых крыс зарегистрировано значимое повышение на 5,7% от среднего уровня альбумина в сравнении с контролем. Амплитуда колебаний содержания альбумина при этом на 29% от

среднего снижается, а у группы глобулинов на протяжении 60 минут наблюдения приобретает линейный характер.

В плазме крови половозрелых и старых животных в условиях воздействия ССГ регистрируется уменьшение амплитуды колебательных процессов в сравнении с контролем: в группе половозрелых крыс отмечено снижение на 10% уровня содержания общего белка и глобулинов на 35% в ответ на действие экзотоксиканта, в то же время наблюдается увеличение на 19% среднего содержания альбумина. Так как для половозрелых животных характерен более высокий уровень адаптационных способностей к экзогенным повреждающим воздействиям, то ответная реакция организма становится более «экономной», что и проявляется сглаживанием кинетической кривой группы глобулинов.

У стрессированных старых животных также зарегистрировано некоторое снижение метаболической активности плазмы крови: общего белка и альбуминов, но наблюдается более выраженное повышение уровня глобулинов на 5,6% от среднего. Очевидно, что изменения ритмичности в содержании альбумина у молодых и половозрелых животных связаны с его основной функцией транспортного белка. Тем самым наши данные подтверждают исследования Л.Д. Лукьяновой (1989), И.В. Сорокиной с соавторами (1997) и J. Gutteridge (1995) о том, что важную роль выполняют белки плазмы крови (альбумин, трансферрин, церулоплазмин, лактоферин), обладающими свойствами антиоксидантной защиты жидких сред организма. Кроме того, И.В. Сорокиной с соавторами (1997) и J. Gutteridge (1995) отмечено, что антиоксидантные свойства белков плазмы крови, в том числе и альбумина, определяются способностью связывать металлы переменной валентности, что, в свою очередь, подавляет синтез свободных радикалов и снижает выраженность перекисного окисления липидов.

Необходимо отметить, что наблюдаемое в наших исследованиях изменение ритмичности в содержании альбумина могло отразиться и на интенсивности свободно-радикальных процессов. Полученные результаты

подтвердили данные В.Г. Василькова с соавторами (2001), которые доказали, что при наличии дисбаланса между активностью антиоксидантной защиты и реакцией ПОЛ может снижаться основная функция альбумина - транспортная, т.к. продукты ПОЛ могут блокировать синтез альбумина.

Комплексное введение препаратов (тималин + витамин Е) на фоне стресса организма формирует положительную ответную динамику со стороны метаболической активности плазмы крови крыс всех возрастных групп, повышая резистентность изучаемых белков к воздействию хронической ингаляции природного газа. Зарегистрированные в нашем исследовании перестройки временной организации белков плазмы крови (снижение амплитуды колебаний, удлинение периодов, сглаживание кинетической кривой) являются важнейшими компонентами адаптационного механизма в целом на действие экзотоксиканта, и свидетельствует о функциональных резервах организма на клеточном уровне (Курзанов А.Н. и др., 2016). Поскольку такие изменения осцилляций связаны со спецификой клеточного метаболизма и отражают его нестабильность.

Наши данные подтверждают результаты исследований, проведенных Б.Г. Юшковым с соавторами (1999); В.М. Боевым (2001); А.П. Ярошинской с соавторами (2016); Е.В. Голубкиной с соавторами (2019), о том, что в условиях хронической ингаляции серосодержащих поллютантов, они, в объеме циркулирующей крови, проявляют свое действие и могут нарушать обмен между микроциркуляторным руслом и клетками, изменяя при этом (по данным Э.А. Петросян и Н.А. Неделько, 2001) проницаемость в мембранах эритроцитов.

Результаты изучения хронобиологических особенностей иммунной системы крыс на этапах онтогенеза, приводят к общему выводу об адаптивном значении модификаций окологасовых колебаний изучаемых нами белков, как в плазме крови, так и в тканях органов иммунной системы у всех экспериментальных животных. В свою очередь, рассматривая в онтогенетическом аспекте морфофункциональные нарушения, вызванные



токсическим воздействием, следует отметить, что серосодержащие соединения приводят к резко выраженному десинхронозу в тканях тимуса, лимфатических узлов и в селезенке крыс.

а) Тимус. Сравнивая возрастные особенности модификаций ритмических кривых, нами впервые обнаружено, что в тимусе у половозрелых животных амплитуда колебаний содержания общего белка и альбумина ниже, чем у неполовозрелых крыс, что, вероятно, обусловлено более «экономным режимом» работы тимоцитов и более высокой степенью синхронизации их деятельности. В ткани вилочковой железы старых животных в условиях гипоксии, вызванной воздействием природного газа, кинетическая кривая, регистрирующая содержание альбумина, приобретает монотонный характер. Однако, динамика содержания общего белка продолжает сохранять окологосовую периодичность. Наибольшее снижение амплитуды колебаний изучаемых белков у старых крыс в сравнении, как с половозрелыми, так и с неполовозрелыми животными на всех стадиях эксперимента связано, по-видимому, с происходящими в тимусе инволюционными процессами. На фоне комплексного введения препаратов (тималин + витамин Е) стрессированным старым животным ответная реакция к экзогенному токсическому воздействию проявляется в стабилизации компенсаторных возможностей ткани тимуса. Свидетельством этого является значимое повышение амплитуды колебаний содержания, как общего белка на 14%, так и альбумина на 9%. На кинетической кривой также регистрируется увеличение среднего количества общего белка в 1,1 раза и альбумина в 2,3 раза в сравнении с подгруппой ССГ старых животных.

б) Паховые лимфатические узлы. Нами впервые зарегистрировано сохранение окологосовой периодичности при стрессе содержания и общего белка, и альбумина в тканях паховых лимфатических узлов всех возрастных групп животных. Однако, воздействие экзотоксикантом приводит к снижению уровня изучаемых белков и амплитуды колебаний, что отражается в модификациях ритмических кривых особенно в группах молодых и старых

крыс. При сравнении с контролем, в условиях стресса происходит значимое понижение на 26,7% содержания общего белка и уровня альбумина на 78,6% от среднего в группе неполовозрелых животных. Зарегистрировано так же снижение на 55% содержания общего белка и на 76,5% от среднего уровня альбумина в группе старых животных при сравнении с контрольными значениями. При этом у неполовозрелых крыс на кинетической кривой происходит существенный рост амплитуды колебаний уровня альбумина, но незначительное снижение амплитуды колебаний общего белка, что свидетельствует, вероятно, о низкой степени синхронизации в тканях лимфатических узлов неполовозрелых животных, обеспечивающих их оптимальное функционирование при действии экзотоксиканта.

Модификация окологочасовых ритмических процессов на фоне введения антиоксидантов затрагивает изменение амплитуды колебаний содержания общего белка и альбумина у животных всех возрастных групп, способствуя повышению активности процессов обмена белков в тканях паховых лимфатических узлов. Вместе с тем, по мере становления адаптационных механизмов к экзогенному токсическому воздействию у старых животных на фоне введения  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина проявляется ответная реакция в сглаживании кинетической кривой уровня содержания альбумина в паховых лимфоузлах. Это связано, по-видимому, с истощением компенсаторной возможности ткани паховых лимфатических узлов у этой группы животных, которые происходят на фоне инволюционных изменений.

в) Селезенка. Анализируя полученные нами возрастные особенности модификации ритмических кривых в ткани селезенки, следует отметить, что у интактных половозрелых животных средний уровень содержания общего белка выше в 2 раза в ткани, чем у неполовозрелых крыс, и в 1,3 раза больше, чем в группе старых животных. Средний уровень содержания альбумина зарегистрирован также выше у половозрелых крыс на 59%, чем у неполовозрелых, и на 10% больше, чем у старых животных. Амплитуда колебаний уровня изучаемых белков при этом у половозрелых животных в

ткани селезенки значимо ниже, чем у неполовозрелых и старых крыс. Это, вероятно, связано с наиболее «экономным режимом» работы спленоцитов в тканях половозрелых животных и высокой степенью синхронизации их деятельности.

Наше исследование показало, что токсическое воздействие на органы иммунной системы, а особенно в селезенке, способствует снижению амплитуды колебаний уровня общего белка и альбумина во всех возрастных группах, хотя при этом кинетические кривые продолжают сохранять, вне зависимости от возраста, окологосовую периодичность. В эксперименте, зарегистрированные нами изменения носят обратимый характер, а введение комплекса тималина и витамина Е модифицирует кинетические кривые, повышая при этом амплитуду колебаний и среднее содержание общего белка и альбумина в ткани селезенки во всех возрастных группах животных.

Таким образом, проведенное исследование дает основание для вывода, что многократно повторяющиеся, длительно действующие формы стресса, в частности токсического характера, могут оказывать существенное влияние на иммунную систему и приводят к нарушению ее основной функции – иммунологического контроля, что вполне согласуется с литературными данными М.Р. Сапина с соавторами (2000; 2012), Е.В. Коплика (2008), Е.А. Ивановой (2010), С.В. Свирина (2010).

При старении в тканях тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки резко изменяется амплитуда колебаний, рассматриваемая как основной показатель синхронизации иммунокомпетентных клеток и их согласованной синтетической активности, что согласуется с данными В.Я. Бродского (2021).

В эксперименте при гипоксии, вызванной воздействием сероводородсодержащим газом АГКМ, изменяются адаптивные возможности межклеточной кооперации, как показано на предлагаемой нами схеме 1.

В свою очередь, популяция иммунокомпетентных клеток при введении тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата модифицирует окологосовой ритм

содержания общего белка и альбумина в пределах адаптивных возможностей ткани тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки, используя оптимальный для этого набор периодов и амплитуды колебаний.

<i>ССГ</i>			
<i>Время наблюдения 180 мин.</i>			
<i>Плазма крови</i>	<i>Тимус</i>	<i>Паховые лимфатические узлы</i>	<i>Селезенка</i>
↓ Амплитуды колебаний содержания изучаемых белков - Изменение периодов колебаний - Сглаживание кинетической кривой			
↓ Количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм <sup>3</sup> ↑ Показателей пероксидации липидов ↑ ОМБ	<i>В изучаемых органах</i> ↓ Относительного коэффициента массы органа ↓ Синтетической активности иммунокомпетентных клеток ↑ Показателей пероксидации липидов ↑ ОМБ ↑ Уровня апоптоза в тканях Морфологические изменения в тканях		

**Схема 1. Эффекты воздействия ССГ на организм крыс**

*Примечание:* ↑ - повышение; ↓ - снижение изучаемого показателя

Механизм функционирования тканей органов иммунной системы и плазмы крови на фоне ССГ+АО отражен на предлагаемой нами схеме 2.

<i>ССГ+АО</i>			
<i>Время наблюдения 180 мин.</i>			
<i>Плазма крови</i>	<i>Тимус</i>	<i>Паховые лимфатические узлы</i>	<i>Селезенка</i>
↑ Амплитуды колебаний содержания изучаемых белков - Изменение периодов колебаний			
↑ Количества эозинофильных гранулоцитов в 1 мм <sup>3</sup> ↓ Показателей пероксидации липидов ↓ ОМБ	<i>В изучаемых органах</i> ↑ Относительного коэффициента массы органа ↑ Синтетической активности иммунокомпетентных клеток ↑ Пролиферации в тканях ↓ Показателей пероксидации липидов ↓ ОМБ ↓ Уровня апоптоза в тканях		

**Схема 2. Эффекты воздействия ССГ+АО на организм крыс**

*Примечание:* ↑ - повышение; ↓ - снижение изучаемого показателя

Одним из наиболее ранних проявлений формирования стресс-реакции на фоне развивающейся гипоксии в лимфоидных тканях, вызванной воздействием сероводородсодержащего газа, является зафиксированное нами снижение относительного коэффициента массы по отношению к контролю в группе неполовозрелых животных в тимусе - на 29%, паховых

лимфатических узлах - на 55,6%, максимальное изменение уровня данного показателя происходит в селезенке - на 61%. Аналогичные изменения зафиксированы нами в группах половозрелых и старых крыс. Данная ответная реакция органов иммунной системы на токсический стресс согласуется с результатами исследований А.К. Ажиковой с соавторами (2020), А.Л. Ясенявской с соавторами (2016) и М.А. Самотруевой с соавторами (2010). Кроме того, ответная стресс-реакция на действие экзотоксиканта в наших исследованиях проявилась эозинопенией, с более выраженным эффектом в плазме крови старых крыс. Следствием этого обусловлены резкие изменения метаболических процессов, происходящих и на клеточном, и тканевом уровнях организации. Нарушая проницаемость контактирующих участков поверхностных клеточных мембран, серосодержащие соединения приводят к десинхронизации клеток тканей органов иммунной системы, что и отражается на модификациях ритмической кривой именно альбумина, являющегося основным транспортным белком. Наши экспериментальные данные согласуются с результатами Э.Б. Великанова с соавторами (1989) о том, что при возрастании концентрации газообразных серосодержащих продуктов при 300 мг/м<sup>3</sup> по сероводороду наблюдается увеличение альбуминов с молекулярной массой 60 кДа в 2,5 раза. При ингаляции наибольшей концентрации (600 мг/м<sup>3</sup>) те же авторы обнаружили увеличение содержания альбуминов с той же молекулярной массой в 1,6 раза.

Результаты наших исследований показывают также, что старение клеток в органах иммунной системы сопровождается резким снижением амплитуды колебаний окологасового ритма изучаемых белков, указанного ранее В.Я. Бродским (2014) в экспериментах *in vitro* в культурах гепатоцитов, как показатель синхронизации, и как параметр согласованной активности клеток.

На этапах онтогенеза модификации окологасовых осцилляций при хроническом стрессе обратимы, имеют адаптивный характер и связаны с

изменением выбора частот колебаний, которые бы обеспечивали оптимальное функционирование, как плазмы крови, так и тканей органов иммунной системы в условиях экзотоксического стресса.

Полученные нами данные позволили сделать заключение о том, что от степени синхронизации клеток зависит амплитуда окологасовых осцилляций, регистрируемая в тканях органов, что подтверждает также утверждения Б.В. Фельдмана (2011) и В.Я. Бродского (2021) о нерегулярности окологасовых ритмов – периоды которых могут варьировать с 20 минут до 2–3 часов, что связано с особенностями процессов метаболизма клетки. По мнению авторов, окологасовые ритмы адаптивны, благодаря тому, что в основе их лежит «отбор частот» колебаний, и это способствует оптимизации деятельности организма в целом при изменяющихся условиях внешней среды.

Зарегистрированные нами изменения изучаемых показателей плазмы крови в условиях стресса отразились в ответных реакциях органов иммунной системы крыс независимо от возраста. Полученные результаты данного исследования, вне сомнений, указывают на функциональную взаимосвязь окологасовых колебаний изучаемых белков плазмы крови с уровнем оксидативного стресса и характером морфологических изменений в тимусе, лимфатических узлах и селезенке в онтогенезе крыс.

Анализируя уровни СРО в ткани тимуса, нами обнаружено, что уровень содержания продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой, увеличивается с возрастом и развивается окислительный стресс. Об этом свидетельствует выявленный рост всех показателей ПОЛ в группе старых животных. Этот факт, соответственно, показывает, что в тимусе старых крыс на фоне инволюционных изменений, зарегистрированных в нем, отмечается усиление экзотоксического действия природного газа. Однако, уровень окислительной модификации белков в 1,2 раза оказался ниже в группе стрессированных старых крыс, чем в тимусе молодых и половозрелых животных. В условиях эксперимента, несмотря на снижение показателей ПОЛ у неполовозрелых животных, можно говорить о том, что адаптивные

механизмы в ткани тимуса этой возрастной группы еще окончательно не сформированы, в связи с этим ответная реакция на экзотоксическое воздействие имеет неоднозначный характер. Данные результаты исследований согласуются с утверждениями авторов В.Г. Морозова, В.Х. Хавинсона (1997), Е.П. Киселевой (2004), И.М. Кветного с соавторами (2005), В.О. Поляковой (2007), А.Т. Дюсембаевой (2008), Е.С. Федоровой (2009), В.Х. Хавинсона и С.С. Коновалова (2009), К.К. Расулова с соавторами (2012); Г.Ю. Стручко с соавторами (2014), Е.Б. Родзаевской с соавторами (2017), Б.А. Муруева с соавторами (2018), Г.Ю. Стручко с соавторами (2018), И.Ю. Ваш (2019), А.В. Наумов с соавторами (2020) о том, что тимус претерпевает выраженную возрастную инволюцию, а стресс ускоряет при этом развитие акцидентальной инволюции, снижая иммунологическую реактивность организма и его устойчивость к патогенным факторам.

Полученные данные о введении  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина на фоне воздействия экзотоксином указывают на достаточно высокие адаптивные возможности ткани тимуса, приводя к снижению во всех возрастных группах уровня свободно-радикальных процессов, с более выраженным корригирующим эффектом у старых крыс. Следует отметить, что при воздействии комплексом препаратов на фоне индуцированного стресса происходит так же существенное увеличение среднего уровня содержания общего белка и альбумина в 2,3 раза в ткани тимуса старых крыс при сравнении с подгруппой стрессированных старых животных, и одновременно способствовало достоверному снижению активности свободно-радикальных процессов. Полученные нами результаты подтверждают приведенные выше данные И.В. Сорокиной с соавторами (1997) и J. Gutteridge (1995), а так же E. Sodergren, J. Cederberg et al. (2001).

Анализ наших исследований в условиях токсического стресса свидетельствует о существенной интенсификации ПОЛ в ткани паховых лимфатических узлов старых животных в сравнении с контрольными значениями: исходного ПОЛ в 10 раз, скорости спонтанного ПОЛ в 13 раз и

аскорбатзависимого ПОЛ в 5 раз. Вместе с тем, произошло снижение уровня окислительной модификации белков на 73% в сравнении с контрольными животными того же возраста. Вероятно, что повышение активности всех показателей ПОЛ на фоне действия стрессора способствовало привлечению в адаптивный процесс других составляющих звеньев антиоксидантной защиты ткани паховых лимфоузлов старых крыс, что и отразилось снижением уровня ОМБ при ответной реакции органа на гипоксический эффект сероводородсодержащего газа.

Обращает внимание тот факт, что сочетанное введение  $\alpha$ -токоферола ацетата и тималина в условиях эксперимента способствовало значительному снижению активности свободно-радикальных процессов в паховых лимфоузлах старых крыс при сравнении с подгруппой стрессированных животных того же возраста. Однако, в сравнении с интактными животными уровни всех показателей ПОЛ не достигли контрольных значений. По всей вероятности, это определяется истощением антиоксидантной системы ткани паховых лимфатических узлов на стадии инволюции. Полученные результаты подтверждают приведенные ранее данные авторов G. Rao, E. Xia и A. Richardson (1990) о том, что процессы старения могут сопровождаться разнонаправленными изменениями в активности ферментных систем и это позволяет сохранять определенный уровень физиологических процессов.

Данные экспериментальных исследований в ткани селезенки показали, что при хроническом стрессе активность свободно-радикальных процессов зависит и от возраста животных, и от особенности функционирования этого органа в ответ на действие экзотоксиканта. Содержание изучаемых продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой с возрастом увеличивается и способствует развитию окислительного стресса в ткани селезенки. Об этом свидетельствует зарегистрированный рост уровня всех показателей ПОЛ в ткани старых животных, как в сравнении с неполовозрелыми крысами, так и с половозрелыми животными. При сравнении результатов исследования в группах неполовозрелых и



половозрелых крыс при экзотоксическом воздействии, можно отметить достоверный рост на фоне стресса скорости спонтанного ПОЛ у половозрелых животных и ослабления индуцированного ПОЛ, что, вероятно связано, с наиболее выраженными компенсаторными возможностями в тканях селезенки половозрелых крыс. Повышение уровня ОМБ в условиях гипоксии у животных всех возрастных групп свидетельствует о развитии оксидативного стресса в органе в не зависимости от возраста животных.

Как показали результаты исследований, наибольший корригирующий эффект от комплекса препаратов был зарегистрирован в селезенке у половозрелых крыс по сравнению с контрольными значениями неполовозрелых и старых животных. При этом снижение скорости аскорбатзависимого ПОЛ у неполовозрелых и старых крыс не достигло контрольных значений, что связано, возможно, с истощением компенсаторных антиоксидантных возможностей ткани селезенки этих животных.

Исследование так же показало, что в условиях хронического стресса в тканях тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки происходят выраженные изменения в ядрах лимфоцитов, что подавляет процессы синтеза и транспортировки клеточных белков. Ранее в работах И.Н. Полунина, Р.И. Асфандиярова, Н.Н. Тризно (1999); М. В. Мажитовой (2012); Т.А. Шишкиной с соавторами (2018); Е.В. Голубкиной с соавторами (2019) доказано, что в легких и ЦНС сероводород вызывает острую тканевую гипоксию, ингибируя электронный транспорт в митохондриях, путем формирования прочной связи с железом в молекулах цитохромоксидаз. Можно предположить, что в условиях гипоксии и в органах иммунной системы запускаются те же адаптационно-компенсаторные механизмы, направленные на поддержание ее функций.

Результаты наших исследований согласуются с данными Н. Selye (1985), о выраженных изменениях со стороны лимфоидной ткани в динамике стресс-реакций. Он доказал, что первая стадия стресса протекает на фоне

лимфопении, которая наблюдается в крови, селезенке, лимфатических узлах и тимусе. Как указывает автор, в стресс-реакции, прежде всего, происходит концентрация лимфоидных клеток в костном мозге и стимуляция кроветворных функций с гиперплазией костного мозга, усиливая сопротивляемость организма. Стресс-реакция с самого начала сопровождается истощением иммунной системы, а стресс-факторы вызывают быстрое сморщивание тимуса, как бы «отдавая себя» на спасение организма. Анализ немногочисленных пока исследований (Сапин М.Р., Никитюк Д.Б., 2000; Обухова Л.А., 2001, 2004; Булекбаева Л.Э., 2001; Александрова Л.И., Капитонова М.Ю., Краюшкина Н.Г., 2008, 2009; Арондский Е.В., 2008; Дюсембаева А.Т., 2008; Ерофеева Л.М., 2008; Торбек В.Э., 2010; Сапин М.Р. и др., 2012; Fukai I. et al., 1991; Maroder M. et al., 2000; Padgett D.A., Glaser R., 2003; Jin, J., 2014), проведенных в этом направлении, показывает, что процесс адаптации к действию экстремальных факторов сопровождается глубокими изменениями со стороны иммунной системы.

Результаты нашего исследования были направлены на выявление связи между иммунной системой и некоторыми другими гомеостатическими показателями организма в динамике адаптационного процесса. Одним из показателей ответной реакции ткани тимуса на токсическое стрессовое воздействие является защитное изменение уровня апоптоза лимфоцитов. Нами зарегистрировано, что у животных, подвергшихся воздействию ССГ, существенно возрастает количество апоптозных клеток в тимусе всех возрастных групп животных. Наибольший уровень апоптоза наблюдался в ткани тимуса стрессированных крыс у неполовозрелых и старых животных. У половозрелых особей этот же показатель увеличился незначительно, что, вероятно, свидетельствует о большей стрессоустойчивости ткани тимуса данной возрастной группы.

На фоне гипоксии, вызванной воздействием природным газом, нами зарегистрировано снижение функциональной активности тимоцитов животных всех возрастных групп, с наибольшим проявлением у

неполовозрелых и старых крыс. Подтверждением этого процесса является некоторое снижение показателя площади ядер лимфоцитов в мозговом слое тимуса неполовозрелых и половозрелых животных, а у старых крыс отмечено резкое падение площади ядер лимфоцитов на 38,8% в сравнении с контролем.

Сравнивая величины данного показателя в онтогенетическом аспекте, необходимо отметить, что площадь ядер лимфоцитов у половозрелых животных под действием токсического стресса незначительно изменилась, как и у неполовозрелых крыс, но превысило на 50% площадь ядер лимфоцитов старых животных.

Как показали исследования, токсическое воздействие провоцирует начало акцидентальной инволюции вилочковой железы у половозрелых животных, с более выраженным ответным эффектом ткани органа старых крыс. Наблюдаемые нами структурные преобразования в ткани вилочковой железы согласуются с результатами исследования А.А. Идрисова с соавторами (2010) о формировании дистрофических изменений в тимусе при экзотоксикозе.

Установленные в онтогенетическом аспекте структурные изменения в дольках тимуса являются проявлением адаптивной реакции ткани на действие хронической гипоксии, в условиях которой тимоциты, вероятно, способны «выбирать» наиболее экономичный путь своего развития.

Результаты наших исследований подтверждают данные А.М. Дудченко (2004); Л.Д. Лукьяновой с соавторами (2011), И.С. Старской с соавторами (2013), Г.Ю. Стручко (2014), М.В. Комельковой (2015), А.М. Косыревой с соавторами (2019) о механизмах системной адаптации к гипоксии, которая является пусковым фактором к началу инволюции тимуса (Ивановская Т.Е., 1996; Идрисов А.А. с соавторами, 2010; Замечник Т.В., 2012). Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют о снижении устойчивости ткани тимуса с возрастом к стрессогенному воздействию экзотоксиканта.

Сохранение гормонообразующей функции тимоцитов, согласно литературным данным (Обухова Л.А., 2004; Наумова Е.М. и др., 2005; Перцов С.С. 2006; Пальцев М.А., Кветной И.М., 2008; Miller J. F. A. P., 2002; Csaba G., 2016), является так же важным и необходимым условием для поддержания жизнеспособности тимоцитов при описанных ранее морфологических изменениях в тимусе, особенно в ткани органа старых крыс. В связи с этим, комплекс «тималин + витамин Е» способствовал увеличению относительного коэффициента массы тимуса животных, подвергшихся хронической ингаляции ССГ: на 23% у старых крыс, на 10,53% у половозрелых животных, а у неполовозрелых крыс изучаемый показатель вырос даже на 58,8%.

На фоне введения антиоксидантов нами зарегистрировано также повышение функциональной активности тимоцитов животных всех возрастных групп, с наибольшим проявлением ее у неполовозрелых и старых крыс, о чем свидетельствует увеличение площади ядер лимфоцитов в мозговом веществе тимуса. При этом, максимальное увеличение на 91,5% (!) изучаемого показателя зарегистрировано у старых животных, в сравнении с подгруппой ССГ.

При анализе возрастных особенностей функциональной активности ткани тимуса в условиях токсического стресса на фоне введения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата обращает внимание тот факт, что площадь ядер лимфоцитов неполовозрелых животных существенно выше этого же показателя в группе половозрелых и старых крыс.

На фоне гипоксии комплекс «тималин + витамин Е» способствовал снижению уровня апоптоза у животных всех возрастных групп с наибольшим эффектом в ткани тимуса старых и неполовозрелых животных. Антиапоптотический эффект зарегистрирован в сравнении с животными тех же возрастов, подвергшихся хроническому воздействию природного газа.

Полученные нами данные согласуются с исследованиями последних лет о том, что введение иммуномодуляторов способствует появлению

апоптозоустойчивых лимфоцитов (Заботина Т.Н., 2005; Жумашева А.А. с соавторами, 2016; Бажанова Е.Д., Анисимов В.Н., 2020; Manley N.R., 2000; Maroder M. et al., 2000; Arockia-Rani P.J. et al., 2001; Hazenberg M. D. et al., 2001; Gameiro J. et al., 2010). Данные авторов подтверждают особую роль тимуса в восстановлении популяции Т-клеток после действия различных повреждающих агентов (Потапнев М.П., 2002; Хавинсон В.Х., Коновалов С.С., 2009; Донецкова А.Д., Шарова Н.И., Никонова М.Ф. и др., 2013; Куклина Е.М., 2013; Janossy G. et al., 1986; Abe R. et al., 2001; Lio C.W. et al., 2011; Alexandropoulos K., 2012; Roberts N. et al., 2014).

С возрастом, в условиях токсического стресса, происходит достоверное снижение относительного коэффициента массы паховых лимфатических узлов по отношению к контролю: у неполовозрелых животных на 55,6%, у половозрелых особей на 57%, а у старых крыс зарегистрировано максимальное изменение значения этого показателя на 81% (!). Выявленные нами изменения массы паховых лимфоузлов связаны с ответной реакцией ткани на хроническое воздействие ССГ, и с возрастными структурными перестройками.

В условиях развивающейся гипоксии в ткани паховых лимфатических узлов нами зарегистрировано существенное изменение уровня апоптоза лимфоцитов, который с возрастом животных увеличивается. В эксперименте у половозрелых крыс этот показатель незначительно выше, чем у неполовозрелых животных, что свидетельствует, по-видимому, о большей стрессоустойчивости ткани лимфоузла данной возрастной группы. Этот факт согласуется с результатами ранее проведенных исследований (Сох G., 1995; Melcangi R.C. et al., 2000) о том, что высокий уровень половых гормонов при стрессе способствует защите клеток от усиления апоптоза.

При токсическом стрессовом воздействии в ткани паховых лимфатических узлов нами также отмечены значимые изменения площади ядер лимфоцитов у неполовозрелых и старых животных. Анализируя, возрастные особенности изменения этого показателя у стрессированных

крыс обращает внимание тот факт, что площадь ядер у неполовозрелых животных на 35,6% больше площади ядер старых крыс и на 25% выше, чем у половозрелых крыс. В то же время, площадь ядер половозрелых животных при гипоксии существенно превышает этот же показатель у старых животных ( $P < 0,05$ ). Полученные данные согласуются с утверждениями авторов (В.Т. Морозова с соавторами, 2003; В.М. Петренко, 2004; И.Н. Путаловой, 2008; И.И. Кошелевой, 2010; Q.Q. Ни et al., 2014; Бородина Ю.И. и др., 2016; Умбетова Т.Ж., 2018) о том, что к действию повреждающих факторов наиболее подвержены структуры лимфатических узлов с максимальными функциональными нагрузками, при этом ответная реакция их может сопровождаться изменением плотности расположения иммунокомпетентных клеток (Гилязова Л.Б., Коплик Е.В. и др., 2010; Конторщиков П.К. и др., 2010), а так же изменением площадей герменативных центров лимфоидных узелков и мозговых тяжей (Иванова Е.А., 2010).

Мы обратили внимание, что при воздействии комплексом антиоксидантов на стрессированных животных зарегистрирована положительная динамика функциональной активности ткани паховых лимфоузлов. Достоверное увеличение площади ядер лимфоцитов наблюдалось у животных всех возрастных групп, при этом максимальный подъем зарегистрирован у старых животных, в сравнении с группой получавшей серосодержащий газ. Анализируя активность ткани лимфоузла в онтогенезе обращает на себя внимание тот факт, что при стрессе на фоне введения тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата площадь ядер лимфоцитов неполовозрелых животных существенно выше этого же показателя в группе старых крыс и половозрелых животных. При этом изучаемый показатель у половозрелых крыс был достоверно выше, чем у старых крыс.

В нашем исследовании комплекс «тималин + витамин Е» оказал антиапоптотическое действие на клетки иммунной системы стрессированных животных всех возрастных групп, при этом наибольший корректирующий

эффект отмечен у старых крыс, что мы связываем с увеличением уровня цитохрома «с» в цитоплазме стареющих клеток, который, согласно литературным данным (Ибатуллина, Р.Б., 2001; Phaneuf S. et al., 2002; Mohan M. et al., 2003), ингибирует  $\alpha$ -токоферол, воздействуя на митохондриальный и каспазный уровень апоптоза.

В онтогенетическом аспекте наблюдаемые структурные перестройки в ткани паховых лимфоузлов стрессированных животных на фоне введения тималина с  $\alpha$ -токоферолом ацетатом характеризуются также увеличением площади мозгового вещества, расширением мозговых синусов, в то же время у старых крыс отмечается явление коллагенизации трабекул. Наличие таких морфологических изменений в строме изучаемого органа, согласно литературным данным М.Р. Сапина (2012), О. Ohtani, Y. Ohtani (2008), П.А. Елясина с соавторами (2010) следует, вероятно, рассматривать как следствие «усиления лимфотока и моторной функции узла».

В ответ на хроническое стрессогенное воздействие нами зарегистрировано достоверное уменьшение относительного коэффициента массы селезенки по отношению к контролю, как у половозрелых особей, так и у старых крыс. Эти результаты наших исследований согласуются с данными Л.Д. Чесноковой с соавторами (2015), В.Б. Зайцева с соавторами (2010), в частности, о различиях в относительной массе селезенки, связанной с преобладающими функциями этого органа на определенном этапе жизнедеятельности.

Как и при исследовании тканей тимуса и лимфоузлов под воздействием экзотоксиканта в ткани селезенки увеличивается уровень апоптоза у неполовозрелых и старых животных. В условиях гипоксии у половозрелых крыс выявлено наименьшее количество апоптозных клеток, что, вероятно, свидетельствует о большей стрессоустойчивости ткани селезенки данной возрастной группы. Полученные результаты наших исследований согласуются с данными Н.К. Тухтаева с соавторами (2010) об увеличении в 2-3 раза уровня апоптоза и о появлении деструктивных изменений в

селезенке, лимфатических узлах при развитии токсического стресса, вызванного хронической интоксикацией пестицидами.

Нами показано, что в цитоплазме лимфоцитов тимусзависимой зоны (Т-зоны) селезенки всех изучаемых групп животных под действием стресса происходит измельчение и распад глыбок хроматофильного вещества по сравнению с контролем, наблюдалось значительное снижение показателя площади ядер лимфоцитов у неполовозрелых крыс. При сравнительном анализе возрастных особенностей изменения этого показателя отмечено, что площадь ядер у стрессированных неполовозрелых животных значимо больше площади ядер старых крыс и половозрелых животных. В то же время, площадь ядер половозрелых крыс в условиях гипоксии достоверно ( $P < 0,05$ ) превышает данный показатель у старых животных.

Под действием экзотоксиканта на фоне введения комплекса «тималин + витамин Е» нами впервые отмечено повышение функциональной активности лимфоцитов селезенки всех возрастных групп, с наибольшим проявлением ее у половозрелых крыс. Подтверждением этого процесса является выявленное значимое увеличение площади ядер лимфоцитов в тимусзависимой зоне белой пульпы селезенки у неполовозрелых и старых крыс, а максимальное увеличение данного показателя зарегистрировано у половозрелых особей ( $P < 0,01$ ), в сравнении со стрессированными животными.

В условиях развивающейся гипоксии, наблюдаемые нами структурные изменения в ткани селезенки крыс - снижение площади белой пульпы у неполовозрелых животных, сокращение диаметра лимфоидных узелков, уменьшение плотности лимфоцитов с возрастом в герминативных центрах, что согласуется с экспериментальными данными Меркуловой Л.М. с соавторами (2017), а разрастание соединительной ткани в паренхиме, обнаружено также П.Г. Магомедовой и М.В. Абрамовой (2010) при изменениях белой пульпы селезенки крыс после воздействия формальдегидом. Как утверждают авторы, на 14 сутки после химической



интоксикации в органе сохраняется сосудистая реакция, а лимфоциты тоже теряют компактность своего расположения.

Используемый нами комплекс «тималин + витамин Е» при стрессе у всех возрастных групп в ткани селезенки способствовал снижению уровня апоптоза. При этом у старых крыс количество апоптозных клеток было несколько больше, чем у неполовозрелых особей, и выше в сравнении с половозрелыми животными. В тоже время у половозрелых крыс уровень апоптоза оказался больше, чем у неполовозрелых животных, что, возможно, свидетельствует об истощении резерва функциональных возможностей ткани селезенки. Полученные нами результаты исследований согласуются с утверждениями М.В. Кондашевой с соавторами (2010), А.М. Косыревой с соавторами (2010) о том, что уровень гормонов, в частности андрогенов и эстрогенов, оказывает модулирующее воздействие на морфофункциональное состояние органов иммунной системы.

Таким образом, выявленные морфофункциональные изменения со стороны клеточных структур органов иммунной системы в условиях гипоксии происходят на фоне модификаций окологасовых ритмов общего белка и альбумина. Экспериментальные исследования показали, что регистрация ритма изучаемых белков происходит тогда, когда появляется морфологическая основа для синхронизации деятельности между клетками изучаемых иммунокомпетентных органов. При этом сероводородсодержащий газ изменяет окологасовой ритм, вызывая снижение амплитуды колебаний, сглаживание кинетической кривой, изменение набора периодов колебаний. В свою очередь, популяция иммунных клеток модифицирует окологасовой ритм в пределах адаптивных возможностей ткани тимуса, паховых лимфоузлов и селезенки, выбирая оптимальный для этого набор периодов и амплитуды колебаний. Результаты исследований показали, как окологасовые ритмы используются в клеточной кооперации для поддержания гомеостаза и адаптации к работе в условиях гипоксии.

Подводя итог обсуждению результатов исследований, необходимо отметить, что в последние десятилетия интенсивно разрабатываются способы комплексной профилактики возрастной патологии, замедления процесса старения и увеличения продолжительности жизни. Благодаря комплексному использованию пептидных биорегуляторов исследователи (В.Х. Хавинсон, И.М. Кветной, 2000; Подколзин А.А. и др., 2001; Коркушко О.В. с соавторами, 2002; Провалова Н.В. и др., 2003; В.Х. Хавинсон и В.Н. Анисимов, 2003; М.В. Козак, Д.Л. Теплый, 2009; V.N. Anisimov, V.Kh. Khavinson 2010; А.В. Шурлыгина с соавторами, 2014; Д.Л. Теплый 2019«б») добивались коррекции нарушенного гомеостаза, препятствуя развитию патологических процессов.

Выявленные в нашей работе закономерности о совместном действии препаратов тималина и альфа-токоферола ацетата, указывают на возможность комплексного применения их в качестве адаптогенов, которые обладают способностью повышать устойчивость белков плазмы крови и одновременно могут корректировать структурно-функциональные адаптационные возможности органов иммунной системы при гипоксии. Своевременное применение альфа-токоферола ацетата и тималина на фоне развивающегося оксидативного стресса, вызванного экзотоксином, может способствовать снижению активности свободно-радикальных процессов, повышая при этом возможности ферментных систем. Это, в свою очередь, приведет к синхронизированию деятельности иммунокомпетентных клеток, тем самым повысит устойчивость тканей и органов иммунной системы к экзогенным повреждающим воздействиям, и позволит на новом уровне поддерживать функциональное состояние клеток тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки.

## Выводы

1. В постнатальном онтогенезе регистрируется снижение амплитуды околочасовых колебаний общего белка в плазме крови (с 8% до 6,3% от среднего) и удлинение периодов колебаний изучаемых белков с 20-40 минут и до 60-80 минут. У неполовозрелых и половозрелых животных ритмические осцилляции содержания альбумина и глобулинов в плазме крови находятся в противофазе. Сглаживание кинетической кривой содержания глобулинов у старых животных (с 21% до 9% от среднего) связано с инволюционными процессами в тимусе.

2. В динамике околочасовых ритмов содержания изучаемых белков тимуса, лимфатических узлов и селезенки на этапах онтогенеза выявлено снижение амплитуды общего белка у старых крыс (в тимусе: с 47% до 11%, в лимфатических узлах с 56% до 48%, в селезенке с 47% до 30,5% от среднего), что объясняется угнетением белкового обмена.

3. Адаптивный характер околочасовых осцилляций изучаемых белков плазмы крови и тканей иммунокомпетентных органов при токсическом воздействии связан с выбором частот колебаний в 20-40 минут и до 60-80 минут и проявляется в снижении амплитуды колебаний, сглаживании кинетической кривой.

4. В онтогенезе наибольшие изменения ритмогенеза в плазме крови отмечены у неполовозрелых стрессированных животных, где зарегистрировано снижение содержания общего белка на 23,7% и глобулинов на 47,4% в сравнении с контролем. Выявленное на протяжении 60 минут наблюдения сглаживание кинетической кривой глобулинов, вероятно связано с низким уровнем резистентности этой группы белков к гипоксическому стрессу. У стрессированных половозрелых и старых животных также зарегистрировано снижение содержания общего белка, но отмечается увеличение уровня альбумина на 19% у половозрелых крыс, что связано, возможно, с его функцией основного транспортного белка и его свойством антиоксидантной защиты жидких сред организма.

5. Угнетение синтеза изучаемых белков в тканях тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа, проявляется в изменении параметров ритма особенно у группы молодых и старых крыс. (В тимусе: у неполовозрелых животных подгруппы ССГ уровень общего белка снижается на 6,9% и альбумина на 46% от среднего, у стрессированных старых крыс снижение содержания общего белка составило на 11% и альбумина на 50% от среднего в сравнении с контролем. В паховых лимфатических узлах: у неполовозрелых животных подгруппы ССГ уровень общего белка снижается на 21% и альбумина на 53% от среднего, у стрессированных старых крыс отмечено снижение содержания общего белка на 55% и альбумина на 76,5% от среднего в сравнении с контролем. В селезенке: у неполовозрелых животных подгруппы ССГ уровень общего белка ниже на 53% и альбумина на 73,9% от среднего, у стрессированных старых крыс отмечено снижение содержания общего белка на 4,1% и альбумина на 32,3% от среднего в сравнении с контролем). Зарегистрированные изменения окологочасовой ритмики белкового обмена могут быть следствием как торможения синтеза белков в органах, так и поступлением белков в ткани из плазмы.

6. Хроническое воздействие сероводородсодержащего газа вызывает выраженные морфологические изменения в тканях тимуса, паховых лимфатических узлов, селезенки (полнокровие сосудов, очаги диапедеза эритроцитов, измельчение и распад глыбок хроматофильного вещества, снижение плотности расположения иммунокомпетентных клеток). На разных этапах онтогенеза в норме и при токсическом воздействии наиболее выраженные апоптотические изменения регистрируются в тканях тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки у неполовозрелых и старых животных.

7. Стресс-реакция, вызванная хроническим воздействием сероводородсодержащего газа, проявляется эозинопенией (с более выраженным эффектом в плазме крови старых крыс), снижением

относительного коэффициента массы органов по отношению к контролю с наибольшим падением в группе неполовозрелых и старых животных (в тимусе - на 29%, в паховых лимфатических узлах - на 55,6%, и селезенке на 61% у молодых крыс; а так же у старых животных: в тимусе - на 45,8%, паховых лимфатических узлах - на 81%, и селезенке на 32%), усилением интенсивности процессов свободнорадикального окисления в плазме крови и тканях тимуса, паховых лимфатических узлов, селезенки, что определяется возрастными адаптационными особенностями функционирования организма в целом.

8. После введения антиоксидантов на фоне стресса наблюдается увеличение амплитуды колебаний общего белка и альбумина плазмы крови у животных всех возрастных групп (наибольшее увеличение в 2,3 раза отмечено у старых крыс), что вероятно способствует повышению активности процессов обмена белков плазмы крови и тканей органов иммунной системы.

9. Совместное применение препаратов тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата на фоне хронического стресса оказывает антиапоптотическое действие на органы иммунной системы крыс всех возрастных групп с наиболее выраженным эффектом в тимусе и селезенке у неполовозрелых и старых животных (в тимусе: отмечается снижение изучаемого показателя на 5% ( $P < 0,001$ ) у старых крыс и на 4,5% ( $P < 0,001$ ) у молодых животных; в селезенке: на 3,5% ( $P < 0,01$ ) у старых и на 3,2% ( $P < 0,05$ ) у молодых животных соответственно ниже количество апоптотических клеток в сравнении с подгруппами ССГ животных того же возраста).

10. Введение тималина и  $\alpha$ -токоферола ацетата при хроническом воздействии сероводородсодержащим природным газом приводит к снижению уровня свободно-радикальных процессов в тимусе, в паховых лимфатических узлах и селезенки у животных всех возрастных групп, но с более выраженным эффектом у старых животных, что свидетельствует о необходимости использования комплекса антиоксидантов в качестве корректоров гипоксических нарушений.

## Научно-практические рекомендации

1. Полученные в ходе диссертационного исследования данные позволяют рекомендовать использовать выявленные околочасовые колебания изучаемых белков в качестве маркера функционального состояния и морфологической зрелости тканей тимуса, паховых лимфатических узлов и селезенки в онтогенезе и при экзогенных воздействиях.

2. Выявленные в работе закономерности совместного действия препаратов тималина и альфа-токоферола ацетата, указывают на возможность их комплексного применения в качестве адаптогенов, способных повышать устойчивость белков плазмы крови, и одновременно корректировать структурно-функциональные и адаптационные возможности органов иммунной системы при стрессогенном воздействии токсической природы.

3. Разработанный в ходе экспериментального исследования комплекс совместного применения терапевтических доз тималина и альфа-токоферола ацетата на фоне оксидативного стресса эффективно снижает интенсивность свободно-радикальных процессов и увеличивает активность ферментных систем, что позволяет рекомендовать этот комплекс препаратов для синхронизации деятельности иммунокомпетентных клеток, а так же для повышения устойчивости тканей и органов иммунной системы к экзогенным повреждающим воздействиям.

4. Предложенный и апробированный в работе комплекс препаратов рекомендуется использовать для проведения доклинических исследований зарегистрированных средств с целью расширения спектра показаний их применения.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абдрашитова, А.Т. Вклад эндогенных и экзогенных факторов в развитие преждевременного старения лиц, занятых на газодобывающем производстве / А.Т. Абдрашитова, Т.Н. Панова, И.А. Белолоапенко // Астраханский медицинский журнал. – 2011 «а». – Т. 6. - № 3. – С. 56 – 58.
2. Абдрашитова, А.Т. Особенности цитокинового статуса и процессов апоптоза под влиянием комбинированного действия производственных факторов газодобывающего предприятия / А.Т. Абдрашитова, Т.Н. Панова, И.А. Белолоапенко // Успехи геронтологии. – 2011 «б». – Т. 24. - № 1. – С. 147 – 153.
3. Абдрашитова, А.Т. Изменение темпа старения и основных иммунологических показателей у лиц, подверженных длительному контакту с сероводородом / А.Т. Абдрашитова, Т.Н. Панова, И.А. Белолоапенко // Медицина труда и промышленная экология. – 2011 «в». - № 7. – С. 10 -16.
4. Абиева, Э.Ш. Роль сукцинатдегидрогеназы в адаптации к гипоксии, перенесенной в пренатальный период развития / Э.Ш. Абиева // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 8 – 11.
5. Абрамченко, В.В. Антиоксиданты и антигипоксанты в акушерстве / В.В. Абрамченко. – СПб: ДЕАН. - 2001. – 399с.
6. Абрамова, Ж.И. Человек и противокислительные вещества / Ж.И. Абрамова, Г.И. Оксенгендлер // Ленинград: Наука. – 1985. – 232с.
7. Авалиани, С.Л. Региональная экологическая политика. Мониторинг здоровья человека и здоровья среды / С.Л. Авалиани, Б.А. Ревич, В.М. Захаров // М.: ЦПЭР. – 2001. – 76с.

8. Автандилов, Г.Г. Медицинская морфометрия. / Москва: Медицина. - 1990. – 384с.
9. Агаджанян, Н.А., Кузьменко Л.Г. Антропогенное загрязнение окружающей среды и состояние здоровья детей в некоторых регионах России // Экопатология детского возраста. – М., 1995. – С. 118 – 127.
10. Агаджанян, Н.А. Экологические аспекты генеза токсического отека легких / Н.А. Агаджанян, И.Н. Полуниин, Н.Н. Тризно // Астрахань. – 1996. – 180с.
11. Агаджанян, Н.А. Экологическая физиология: проблема адаптации и стратегия выживания / Н.А. Агаджанян // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН. - 2001. – С. 5 - 12.
12. Агаджанян, Н.А. Биоритмы. Среда обитания / Н.А. Агаджанян, И.В. Радыш // Изд-во М. : РУДН. - 2013. - 362с.
13. Аглетдинов, Э.Ф. Состояние глутатион-зависимой антиоксидантной системы печени крыс в условиях экспериментального отравления полихлорированными бифенилами / Э.Ф. Аглетдинов, К.В. Булыгин, Л.О. Макашева и др. // Астраханский медицинский журнал. - 2008. – Т. 3. - № 3. – С. 240 – 242.
14. Ажикова, А.К. Гендерные изменения массы иммунокомпетентных органов при ожоговой травме кожи / А.К. Ажикова, Б.В. Фельдман // Научно-теоретический медицинский журнал «Морфология». – 2020. – Т. 157. - №2 - 3. – С. 12.
15. Айтбаев, Т.Х. Изменение окислительно-восстановительных процессов при комбинированном действии сернистого ангидрида и сероводорода на организм белых крыс / Т.Х. Айтбаев, В.М. Алманиязова, З.К. Конакбаева. // Изв. АН Каз. ССР. Сер. биол. - 1984. - № 4. - С.70 - 73.
16. Айтбаев, Т.Х. Изолированное и комбинированное действие малых концентраций сероводорода и сернистого ангидрида в условиях хронического эксперимента / Т.Х. Айтбаев // Вопр. гигиены труда в



- нефтяной и нефтеперерабатывающей промышленности.- Алма-Ата. - 1986. - С. 95 - 108.
17. Александрова, Л.И. Антропогенные воздействия электромагнитных полей на органы иммунной системы / Л.И. Александрова, М.Ю. Капитонова, Н.Г. Краюшкина // Морфология. – 2008. – Т. 133. - № 2. – С. 86.
18. Александрова, Л.И. Органы иммуногенеза в аспектах экологической морфологии / Л.И. Александрова, М.Ю. Капитонова, Н.Г. Краюшкина // Однораловские морфологические чтения: Сб. научных трудов – Воронеж, 2009. – Вып. 8. – С. 228 -230.
19. Анисимов, В.Н. Средства профилактики преждевременного старения (геропротекторы) / В.Н. Анисимов // Успехи геронтологии. – 2000. – Вып. 4. – С. 55 - 74.
20. Анисимов, В.Н. Молекулярные и физиологические механизмы старения /В.Н. Анисимов // СПб. : Наука. – 2003. – 468с.
21. Аношкина, Е. В. Эмбриотоксические эффекты воздействия сероводорода на структурную и функциональную организацию супрахиазматических ядер гипоталамуса с учетом оценки риска здоровью человека / Е.В. Аношкина // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 19 – 21.
22. Арефьева, А.М. Периодичность интенсивности синтеза белка в нейронах структурно-функциональной единицы сетчатки / А.М. Арефьева, И.М. Кунина // Цитологические механизмы гистогенезов. - М., 1979. - С. 161 - 164.
23. Арондский, Е.В. Динамика иммунологических показателей у детей первых двух лет жизни, родившихся глубококонедоношенными / Е.В. Арондский, О.П. Ковтун, И.А. Тузанкина // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2008. - № 5. – С. 10 – 12.

24. Арутюнян, А.В. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма / А.В. Арутюнян, Е.Е. Дубинина, Н.П. Зыбина. – Методические рекомендации. – СПб. : ФОЛИАНТ. – 2000. – 104с.
25. Архипова, Н.Д. Влияние Оренбургского газа на состояние здоровья рабочих ОГПЗ. В кн.: «Ученые производству» / Н.Д. Архипова, Н.М. Беляева, Г.П. Матчин // Тезисы докладов научно-практической конференции, Оренбург. – 1980. – С. 44 - 45.
26. Арчаков, А.И. Микросомальное окисление / А.И. Арчаков. М.: Наука, 1975.-326с.
27. Асфандияров, Р. И. Острые отравления серосодержащими газами / Р.И. Асфандияров, В.Н. Бучин, А.Е. Лазько, А.А. Резаев. - Астрахань. - 1995. - 156с.
28. Ахалая, М.Я. Кратковременное охлаждение повышает антиоксидантный статус и общую устойчивость организма / М.Я. Ахалая, А.Г. Платонов, А.А. Байжуманов // БЭБМ. – 2006. – Т. 141. - № 1. - С. 31 – 35.
29. Бабий, И.С. Влияние различных концентраций продуктов АГКМ на постнатальный онтогенез сетчатки глаза белых крыс: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / И.С. Бабий. - Астраханская гос. мед. академия. – Астрахань. – 1999. – 20с.
30. Бажанова, Е.Д. Участие FAS- и TNF-зависимых путей в механизмах апоптоза в гипоталамусе при физиологическом и патологическом старении / Е.Д. Бажанова, В.Н. Анисимов // Успехи геронтол. - 2020. - Т. 33. - № 1. - С. 34-39.
31. Балашов, В.И. Состояние системы крови у работников Астраханского газоперерабатывающего завода / В.И. Балашов, М.С. Загородняя, И.С. Каминская, В.В. Ярыга, А.В. Иванов, Н.В. Соколова // Материалы юбилейной научной конференции Астраханского медицинского

- института (к 75-летию со дня основания). – Астрахань. - 1993. - С. 182 – 184.
32. Барабой, В. А. Перекисное окисление и стресс / В.А. Барабой, И. И. Брехман, В.Г. Голожин и др. - М. : Наука, 2004. - 148с.
33. Баринов, В.А. Роль свободнорадикального окисления в механизме токсического действия оксида углерода / В.А. Баринов, Г.А. Софронов, В.В. Чумаков, В.А. Иванова // Фундаментальные и прикладные аспекты современной военной токсикологии. Сб. трудов 6-й Всеармейской конф. СПб. : ВМедА, 1996. – С. 8 – 10.
34. Бахтин, А.А. Иммуногистохимическая характеристика слизистой оболочки тонкой кишки при воздействии сероводородсодержащего газа / А.А. Бахтин, Т.А. Шишкина, И.Ю. Чекунова // Астраханский медицинский журнал. – Астрахань. – 2013. – Т. 8. - № 1. – С. 38 – 41.
35. Безруков, Ю.Н. К вопросу о клинико-биохимических и патофизиологических изменениях при хронической интоксикации продуктами сернистой нефти / Ю.Н.Безруков, Л.Л. Брагинская, Г.П. Беговатова // Актуальные вопросы гигиены труда, проф.патологии и токсикологии в нефтяной, нефтехимической и химической промышленности. – Уфа. – 1975. - Т. 8. - С. 81 - 85.
36. Бекчанов, А.Н. Влияние различных концентраций продуктов АГКМ на центральные ритмообразующие структуры у некоторых млекопитающих / А.Н. Бекчанов, Б.В. Фельдман, Р.И. Хасанов и др. // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 61- 62.
37. Бекчанов, А.Н. Околочасовые изменения белковой массы ганглиозных клеток сетчатки в онтогенезе у некоторых позвоночных / А.Н. Бекчанов, И.В. Голенкова, О.О. Дорофеева // Проблемы хронобиологии, хронопатологии, хронофармакологии и

- хрономедицины. Тез. докл. на конференции «Хронобиология и хрономедицина». – Уфа. - 1985. - Т. 1. - С. 65 - 66.
38. Биленко, М.В. Ишемические и реперфузионные повреждения органов / М.В. Биленко // М. : Медицина. – 1989. – 368с.
39. Беднов, И.А. Показатели гемической гипоксии и структурной организации сыворотки крови при хроническом воздействии серосодержащего газа / И.А. Беднов, А.Д. Стемпковский // Астраханский медицинский журнал. – 2007. - № 2. – С. 31 – 32.
40. Белостоцкая, Л.И. Прооксидантно-антиоксидантный баланс в предстательной железе и крови крыс при индуцированном сульпиридом гиперплазии простаты и коррекции простатиленом / Л.И. Белостоцкая, О.Н. Гомон, Ю.В. Никитченко и др. // Бюл. Экспер. биол. и мед. – 2005. – Т. 139. – С. 313 – 316.
41. Богданов, Г.Н. Стресс как биологическая модель для оценки антиоксидантного статуса *in vivo* / Г.Н. Богданов // Биоантиоксидант: Тез. докл. VIII Международной конф. Москва, 4-6 октября, 2010. – М. : РУДН. – 2010. – С. 54 – 56.
42. Боев, В.М. Адаптивная регуляция функций у операторов газохимического производства / В.М. Боев, Н.П. Сетко // Физиология человека. - 1990. - № 4. -С. 140 - 146.
43. Боев, В.М. Функционирование микросомальных монооксигеназ при однократном ингаляционном воздействии серосодержащего газоконденсата / В.М. Боев, С.Н. Смагин, А.А. Никаноров, В.К. Филиппов, С.В. Перепелкин // Тез. докл. всесоюзн. научн.-практ. конф. «Экология и воздействие природного газа на организм» - Астрахань. – 1989. – С. 75 – 76.
44. Боев, В.М. Сернистые соединения природного газа и их действие на организм / В.М. Боев, Н.П. Сетко. - М.: Медицина. - 2001. - 216с.
45. Боев, В.М. Экология человека на урбанизированных и сельских территориях / В.М. Боев, Н.Н. Верещагин, М.А. Скачкова, В.В.

- Быстрых, В.В. Скачков. – Оренбург : Оренбургское книж. Изд-во. – 2003. – 392с.
46. Боев, М.В. Медико-демографические аспекты в моногородах и сельских поселениях / М.В. Боев // Здоровье населения и среда обитания. – 2013. - № 6 (243). – С. 4 - 5.
47. Боев, В.М. Реакция иммунной системы и лимфоидной ткани на воздействие химических факторов окружающей среды / В.М. Боев, Д.А. Кряжев, В.В. Суменко и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2017. – № 4. URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=26555> (дата обращения: 28.06.2021)
48. Божкова, В.П. Соотношение между периодами циклических изменений электрических характеристик мембран и фазами карио - и цитокенеза в дробящихся яйцах выюна и аксолотля / В.П.Божкова, И.Ш. Квавишвили, Н.П. Ротт, Л.М. Чайлахян // Цитология. – 1974. - Т. 16. - С. 709 - 716.
49. Бойко, В.И. Гигиенические аспекты освоения Астраханского газоконденсатного месторождения / В.И. Бойко, В.Н. Салько, М.П. Евдошенко // Тез. докл. обл. научно-практ. конф. «Медико-биологические аспекты экологических проблем Астраханского газового комплекса». – Астрахань. – 1989. – С. 3 – 7.
50. Бойко, В.И. Состояние здоровья рабочих основных профессий Астраханского ГПЗ в зависимости от уровня труда / В.И. Бойко, В.Н. Бучин, И.В. Сабельникова, Ю.И. Доценко, В.А. Бочановский, В.В. Ярыга, А.С. Куликов // Среда обитания и здоровья населения: Материалы Всерос. науч. – практ. конф. – Оренбург, 2001. – Т. 1. – С. 64 - 66.
51. Бойков, П.Я. Механизмы инициирования клеточного цикла: Автореф. дис. ... д-ра хим. наук. / П.Я. Бойков - М.: ИХФ АН. – 1987. – 40с.
52. Боровкова, Г.И. Фосфолипидный спектр, уровень токоферола и аскорбата в эритроцитах после острой кровопотери / Г.И. Боровкова,

- Н.М. Титова // Научные труды I съезда физиологов СНГ, Т. 2. Сочи, Дагомыс 19-23 сентября 2005. – С. 10.
53. Бородин, Ю.И. Периферические лимфоидные структуры: Образование и функция / Ю.И. Бородин, О.В. Горчакова, В.Н. Горчаков // Морфология. – 2016. - Т. 150(4). - С. 90 - 96.
54. Бродский, В. Я. Околочасовые сигналы, метаболизм, функции. Прямые межклеточные взаимодействия / В. Я. Бродский // М.: Научный мир. – 2021. – 368с.
55. Бродский, В. Я. Околочасовые метаболические ритмы / В. Я. Бродский // Биохимия. – 2014. – Т. 79. – Вып. 6. – С. 621 – 634.
56. Бродский, В.Я., Дубовая Н.Д., Звезда Т.К., Фатеева В.И., Мальченко Л.А. Дофамин дезорганизует ритм синтеза белка, нарушая самоорганизацию гепатоцитов *in vitro* / В.Я. Бродский, Н.Д. Дубовая, Т.К. Звезда, В.И. Фатеева, Л.А. Мальченко // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. - Т. 156. - № 7. - С. 48 – 50.
57. Бродский, В.Я. Изменения концентрации ионов кальция и ритм синтеза белка в культуре гепатоцитов / В.Я. Бродский, Н.В. Нечаева, Н.Д. Звезда и др. // Известия АН. Серия биологическая. – 2002. - № 1. – С. 10 - 16.
58. Бродский, В.Я. Блокатор адренорецепторов празозин не препятствует синхронизации ритма синтеза белка экзогенными ганглиозидами в культуре гепатоцитов / В.Я. Бродский, Н.Д. Звезда, Н.В. Нечаева и др. // Известия РАН. Серия биологическая. – 2001. - № 1. – С. 5 - 10.
59. Бродский, В.Я. Околочасовые (ультрадианные) клеточные ритмы: начало исследований, некоторые итоги / В.Я.Бродский // Онтогенез. – 2000. – Т. 31. - № 6. – С. 410 – 419.
60. Бродский, В.Я. Бессывороточная среда, сохраняющая нормальную морфологию и высокий уровень синтеза белка в гепатоцитах *in vitro* /

- В.Я. Бродский, Н.В. Нечаева, В.В. Терских и др. // Известия АН. Серия биологическая. – 1996. - № 4. – С. 398 - 401.
61. Бродский, В.Я. Ритм синтеза белка в денервированной печени крысы / В.Я. Бродский, Т.К. Дубовая, Н.В. Нечаева и др. // Изв. РАН Сер. биол. – 1995. - № 2. – С. 133 - 137.
62. Бродский, В.Я. Следовые процессы в кинетике содержания клеточных белков околоушной слюнной железы / В.Я. Бродский, Н.В. Нечаева, В.Н. Прилуцкий // Цитология. - 1973. - Т. 15. – С. 177 - 182.
63. Бродский, В.Я. Интерференционная микроскопия ганглиозных клеток при различных функциональных состояниях сетчатки / В.Я. Бродский, А.Ф. Кузнецова // Цитология. –1961. - Т. 3. - № 1. - С. 89 - 95.
64. Бродский, В.Я. Количественное цитохимическое исследование нуклеиновых кислот и белков в ганглиозных клетках сетчатки / В.Я. Бродский // Тез. докл. I конф. по цито- и гистохимии. - М.: Медицина. – 1960. - С. 7 - 8.
65. Бронштейн, Е.З. Сероводород / Е.З. Бронштейн, Л.М. Карамова, А.И. Точилкин // Большая мед. энциклопедия. - М. - 1984. – Т. 23. – С. 198 - 200.
66. Бурлакова, Е.Б. Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова, Н.Г. Храпова // Тезисы докл. III Всесоюзн. конф. «Биоантиоксиданты». – М., 1989. – Т. 2. – С. 40.
67. Бурлакова, Е.Б. Синергический эффект антиоксидантов и фосфолипидов при окислении природных липидов / Е.Б. Бурлакова, Н.М. Сторожок, Н.Г. Храпова // Вопросы питания. – 1990. - № 4. – С. 53 - 58.
68. Булекбаева, Л.Э. Адаптивные реакции лимфатической системы при отравлении кадмием и способы детоксикации организма / Л.Э. Булекбаева, М.Р. Хантурин, Г.А. Демченко и др. // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 90 - 91.

69. Бучин, В.Н. Системные основы стресса у работников газовой промышленности / В.Н. Бучин, М.В. Лазько // Вестник новых мед. технологий. - 2002. – Т. 9. - №2. - С. 56 - 58.
70. Бучин, В.Н. Эндоекологическая реабилитация как эффективный способ оздоровления работников Астраханского газового комплекса / В.Н. Бучин, Т.А. Эсаулова, А.В. Бучина // Материалы всероссийской научно-практической конференции, посв.75-летию Башкирской нефти. - Уфа, 2007. -С. 450 - 453.
71. Бучин, В.Н. Экология и здоровье человека / В.Н. Бучин // Астраханский медицинский журнал. – 2007. - № 2. – С. 8 – 9.
72. Бучина, М.М. Восприимчивость бронхов у лиц с преморбидным состоянием ХНЗЛ в условиях работы на газоперерабатывающем производстве / М.М. Бучина, Г.А.Трубников, Л.Д. Давыдова, А.В. Бучина //Материалы Всеросс. науч.- практ. конф. - Оренбург, 2001 - Т.1. - С.102 - 105.
73. Васильков, В.Г. Роль нарушений антиоксидантного статуса организма в формировании синдрома эндогенной интоксикации у больных в токсической и терминальной стадиях перитонита / В.Г. Васильков, Л.Г. Шикунова, Н.Ю. Келина, Н.В. Безручко // Анестезиология и реаниматология. – 2001. - № 6. – С. 31 – 34.
74. Ваш, И.Ю. Влияние формальдегида на морфогенез тимуса белых крыс / И.Ю. Ваш // Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье". – 2019. – № 1. - С. 57 - 69.
75. Векслер, А.М. Прижизненные измерения клеток в культуре тканей с помощью сканирующих микроскопов / А.М. Векслер, Г.А. Костенко, Л.Х. Эйдус, Л.Л. Литинская // Сканирующая техника в исследовании клеточных популяций, клеток, органоидов макромолекул. - Пушино-на-Оке. - 1973. - С. 101 - 112.
76. Великанов, Э.Б. О механизме действия Астраханского природного газа с высоким содержанием сероводорода / Э.Б. Великанов, А.В. Карякин,



- Н.В. Андриянов, Д.Р. Давыдов // Тез. докл. обл. научн.- практ. сотрудников мед. института и врачей Астраханской области. - 1989. - С. 208 - 209.
77. Величковский, Б.Т. Основные патогенетические механизмы профессиональных заболеваний легких пылевой этиологии. Часть 1. От эксперимента к концепции / Б.Т. Величковский // Медицина труда и промышленная экология. – 1998. - № 10. – С. 28 – 38.
78. Вельтищев, Ю.Е. Состояние здоровья и общая стратегия профилактики болезней / Ю.Е. Вельтищев. - М.: Москва. НИИ педиатрии и дет. хирургии, 1994. - 66с.
79. Верещак, Е.В. Влияние антропогенных факторов на состояние здоровья работников газовой отрасли / Е.В. Верещак, Т.П. Бондарь // Астраханский медицинский журнал. – 2007. - № 2. – С. 47.
80. Виноградов, А.Ю. Адаптация организма к последовательному воздействию острых режимов гипоксии и гипероксии / А.Ю. Виноградов // Тез. докл. V Всеросс. конф. «Нейроэндокринология-2000», посвященной 75-летию А.Л. Поленова, 18-20 апреля 2000г. – СПб. - 2000. – С. 26 - 27.
81. Вицкова, Г.Ю. Модельные коразоловые судороги сопровождаются усилением генерации окиси азота и устраняются мексидолом и альфа-токоферолом / Г.Ю. Вицкова, В.Б. Наркевич, В.Д. Микоян и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Т. 66. - № 4 – С. 3 – 5.
82. Владимиров, Ю.А. Свободнорадикальное окисление липидов и физические свойства липидного слоя биологических мембран / Ю.А. Владимиров // Биофизика. -1987. - Т. 32. - № 5. - С. 830 - 844.
83. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты / Ю.А. Владимиров // Вестник РАМН. – 1998. - № 7. – С. 43 - 51.

84. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в живых системах / Ю.А. Владимиров, О.А. Азизова, А.И. Деев с соавт. // Итоги науки и техники. - 2000. – Т. 29. - С. 151 - 167.
85. Владимиров, Ю.А. Дисрегуляция проницаемости мембран митохондрий, некроз и апоптоз. В кн.: Дисрегуляционная патология / Ю.А. Владимиров. - М.: Медицина. - 2002. - С. 127–156.
86. Водолажский, Г.И. Амплитудная динамика микроритмов головного мозга в процессе индивидуального развития человека / Г.И. Водолажский, И.Н. Чадова // Вестник Ставропольского государственного университета. – В.74. - №3. – 2011. – С. 81 – 85.
87. Володина, Е.П. Эффективность мер оздоровления рабочих в условиях воздействия серосодержащих газов / Е.П. Володина, А.В. Фоменко, И.В. Новиков и др. // Медицина труда и промышленной экологии. – 2004. - № 6. – С. 31 – 41.
88. Воробьева, И.А. Ритмические изменения мембранного потенциала клеток *Nitella oрака*, вызванные действием некоторых токсических веществ / И.А. Воробьева, С.П. Балашов, Л.Н. Воробьев // Колебательные процессы в биологических и химических системах. – Пущино. – 1971. – С. 134 - 137.
89. Воскресенский, О.Н. Биоантиоксиданты – облигатные факторы питания / О.Н. Воскресенский, В.Н. Бобырев // Вопр. мед. химии – 1992. – № 4. – С. 21-26.
90. Гадаскина, И.Д. Использование фармакологических тестов для анализа механизма действия промышленных ядов / И.Д. Гадаскина, Ж.И. Абрамова. // Актуальные проблемы гигиенической токсикологии. М. - 1980. - С. 17 - 72.
91. Галоян, А.А. Антистрессорная и антиоксидантная активности синтетического (1-15) концевое пептидного фрагмента иммунофилина в условиях острого акустического стресса / А.А. Галоян, М.М.

- Мелконян, Л.М. Айвозян и др. // Нейрохимия. – 2003. - № 4. – С. 276 – 280.
92. Гацура, В.В. Кардиопротекторные свойства некоторых антиоксидантов / В.В. Гацура, Л.Д. Смирнов // Химико-фармацевтический журнал. – 1992. - № 11-12. – С. 10 – 15.
93. Герасимова, Е.Л. исследование антиоксидантной активности жирорастворимых объектов потенциометрическим методом с медиаторной системой / Е.А. Герасимова, А.В. Рогозникова, Х.З. Брайнина // Биоантиоксидант: Тез. докл. VIII Международной конф. Москва, 4-6 октября, 2010. – М. : РУДН. – 2010. – С. 116 – 118.
94. Гилязова, Л.Б. Плотность расположения клеточных элементов печеночных лимфатических узлов крыс на 3-и сутки после экспериментального геморрагического инсульта / Л.Б. Гилязова, Е.В. Коплик, Л.М. Литвиненко // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 56.
95. Гланц, С. Медико-биологическая статистика / С. Гланц. Изд-во: М., Практика. – 1998. – 459с.
96. Говорухина, А.А. Хронобиологические аспекты работоспособности спортсменов в условиях Среднего Приобья / А.А. Говорухина, Н.С. Москалюк // Вестник СурГПУ. – 2009. – Т. 4. -№ 1. – С. 12 - 14.
97. Голиков, А.П. Свободнорадикальное окисление и сердечно - сосудистая патология: коррекция антиоксидантами / А.П. Голиков, С.А. Бойцов, В.П. Михин и др. // Лечащий врач. – 2003. - № 4. – С. 70 – 74.
98. Голиков, С.Н. Общие механизмы токсического действия / С.Н. Голиков, И.В. Саноцкий, Л.А. Тиунов // АМН СССР – Изд-во Л.: Медицина. - 1986. – 280с.
99. Голубкина, Е.В. Влияние процессов пероксидации в тромбоцитах на систему гемостаза при воздействии сероводородсодержащего газа /Е.В.

- Голубкина, О.С. Дюкарева, Н.Н. Тризно, Л.А. Удочкина, М.Н. Тризно // Журн. мед.-биол. исследований. - 2019. - Т. 7. - № 1. - С. 40 – 48.
100. Гончарова, Н.Д. Стресс, старение и надежность антиоксидантной ферментной защиты / Н.Д. Гончарова, В.Ю. Маренин // Окружающая среда и здоровье человека: Материалы II Санкт-Петербургского международного экологического форума, в 2-х частях; Санкт-Петербург, 1-4 июля 2008 / Под ред. академика РАМН Г.А. Софронова – СПб. : ВМедА. – 2008. – Часть II. – С. 480 – 481.
101. Григорьева, И.В. Особенности регуляции перекисного окисления липидов при острой пневмонии и при острой пневмонии в сочетании с сахарным диабетом / И.В. Григорьева, Д.Р. Ракита, В.Я. Гормаш // Терапевтический архив. – 1993. - № 3. – С. 27 – 31.
102. Губанова, Е.И. Иммунологическая реактивность у ликвидаторов последствий аварии на Чернобыльской АЭС в отдаленный период наблюдения за состоянием здоровья / Е.И. Губанова // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 144 - 145.
103. Губский, Ю.И. Взаимодействие антиоксидантов различной химической структуры с фосфолипидным бислоем / Ю.И. Губский, А.Г. Горюшко, Э.В. Шурко, Л.Г. Саченко // Украинский биохимический журнал. – 1994. – Т. 66. - № 2. – С. 53 - 58.
104. Гудвин, Б. Временная организация клетки. Динамическая теория внутриклеточных процессов / Б. Гудвин. – М. : Мир. - 1966. – 252с.
105. Данилова, Е.И. Эффекты  $\alpha$ -токоферола при нейропатическом болевом синдроме / Е.И. Данилова, В.Н. Графова, В.К. Решетняк // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1994. - № 8. – С.123 - 125.
106. Даршт, В.В. Патологический анализ повреждающего действия природного газа Оренбургского месторождения: автореф. дис. канд. мед. наук / В.В. Даршт. - Челябинск, 1987. - 24с.

107. Даценко, И.И. Влияние загрязнения атмосферного воздуха на здоровье детей / И.И. Даценко, А.Б. Денисюк, С.Л. Долошицкий и др. // *Врачебное дело.* - 1988. - № 4. - С. 112 - 113.
108. Денисова, С.А. Снижение токсичности сероводорода под действием терагерцового излучения / С.А. Денисова, С.М. Рогачева, А.Ю. Сомов и др. // *Окружающая среда и здоровье человека. Материалы II Санкт-Петербургского международного форума, Санкт-Петербург, СПб.: ВМедА.* – 2008. – Часть I. – С. 116 – 117.
109. Донецкова, А.Д. Вклад тимуса в восстановление популяции Т-клеток после действия различных повреждающих агентов / А.Д. Донецкова, Н.И. Шарова, М.Ф. Никонова, А.Н. Митин, М.М. Литвина, В.В. Комогорова, А.А. Ярилин // *Иммунология.* - 2013. - № 6. – С. 309 - 313.
110. Доценко, Ю. И. Гигиена труда при переработке природного газа с высоким содержанием сероводорода / Ю. И. Доценко, В. Г. Сердюков // *Астраханский медицинский журнал.* - 2007. - Т. 2. - № 2. - С. 71.
111. Драндрова, Е.Г. Иммуногистохимические исследования клеточного состава тимуса при канцерогенезе в условиях вторичного иммунодефицита / Е.Г. Драндрова, Г.Ю. Стручко, Л.М. Меркулова и др. // *Современные проблемы науки и образования.* - 2015. - №3.
112. Дремина, Е.С. Использование кинетики Fe<sup>2+</sup>-индуцированной хемоллюминисценции в трис-буферной суспензии лизосом для исследования антиоксидантной активности плазмы крови / Е.С. Дремина, В.С. Шаров, Ю.А. Владимиров // *Биофизика.* – 1993. – Т. 38. – Вып. 6. – С. 1047 - 1052.
113. Дрогичина, Э.А. Профессиональные болезни нервной системы / Э.А. Дрогичина. - Л. : Медицина. - 1982. - 207с.
114. Дубинина, Е.Е. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод ее определения // Е.Е. Дубинина, С.О. Бурмистров, Д.А. Ходов, И.Г. Поротов / *Вопросы медицинской химии.* – 1995. – Т. 41 - № 1. – С. 24 - 26.

115. Дубинина, Е.Е. Роль активных форм кислорода в качестве сигнальных молекул в метаболизме тканей при состояниях стресса / Е.Е. Дубинина // Вопр. Мед. Химии. – 2001. – Т. 47. – Вып. 6. – С. 561 – 581.
116. Дубинина, Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток (жизнь и смерть, созидание и разрушение). Физиологические и клинико-биохимические аспекты / Е.Е. Дубинина. – Спб.: Изд-во Медицинская пресса. - 2006. – 400с.
117. Дубинина, Е.Е. Свободно-радикальные процессы при старении, нейродегенеративных заболеваниях и других патологических состояниях / Е.Е. Дубинина, А.В. Пустыгина // Биомедицинская химия. – 2007. - № 4. – С. 351 - 371.
118. Дудченко, А.М. Триггерная роль энергетического обмена в каскаде функционально-метаболических нарушений при гипоксии / А.М. Дудченко, Л.Д. Лукьянова // Проблемы гипоксии: молекулярные, физиологические и клинические аспекты.- М. : Истоки, 2004. – С. 32 - 54.
119. Думкина, Г.З. Состояние здоровья рабочих современных нефтехимических производств П/О «Салаватнефтеоргсинтез» / Г.З. Думкина, Л.Р. Каримова, Ф.А. Дусеева, Р.А. Алакаева // Сб. науч. трудов. М., 1992. - С. 50 - 55.
120. Дюмаев, К.П. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологии центральной нервной системы / К.П. Дюмаев, Т.А. Воронина, Л.Д. Смирнов. – М., 1995. – С. 7 - 29.
121. Дюсембаева, А.Т. Морфологическая характеристика тимуса при экзотоксикозе / А.Т. Дюсембаева, А.А. Идрисов, Б.Н. Нурмухамбетова // Хирургия, морфология, лимфология. – 2008. – Т. 5. - № 10. – С. 15 – 26.

122. Елясин, П.А. Водный гомеостаз и лимфатический узел / П.А. Елясин, И.А. Голубева, Е.С. Аристова // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 72.
123. Ерин, А.Н. Свободнорадикальные механизмы в церебральной патологии / А.Н. Ерин, Н.В. Гуляева, Е.В. Никушкин // Бюлл. эксперим. Биологии и медицины – 1994. – Т. 10. – С. 343 - 347.
124. Ермагамбетова, А.М. Влияние экологического неблагополучия на состояние нервной системы населения, проживающего в регионе нефтегазовых месторождений Актюбинской области / А.М. Ермагамбетова // Астраханский медицинский журнал. - 2012. – Т. 7. - № 4. – С. 110 – 112.
125. Ерофеева, Л.М. Влияние ионизирующих излучений различного вида на структуру и цитоархитектонику тимуса мышей / Л.М. Ерофеева // Морфология. - 2008. - Т. 134. - № 5. - С. 68 - 69.
126. Еськов, В.М. Состояние функциональных систем организма человека в условиях нарушения суточной ритмики / В.М. Еськов, Р.Н. Живогляд, Е.А. Мишина // Вестник новых медицинских технологий. – 2007. - Т. XIV. - № 1. - С. 27 - 29.
127. Жданов, Г.Г. Проблема гипоксии у реанимационных больных в свете свободнорадикальной теории. Ч. 1 / Г. Г. Жданов, М. Л. Нодель // Вестник интенсивной терапии. 1995. - № 3. - С. 7 - 15.
128. Жигачева, И.В. Состояние электрон-транспортной цепи митохондрий и физиологические показатели животных и растительных организмов при действии стрессорных факторов и биологически активных соединений: дисс. докт. биол. наук. / Жигачёва Ирина Валентиновна. // Москва. - 2012. - 257с.
129. Жумашева, А.А. Особенности изменения темпов роста апоптоза нейтрофилов и лимфоцитов крови в условиях стресса и введения циклоферона и витаминов в ходе возрастной инволюции у самцов белых крыс / А.А. Жумашева, Н.В. Рябыкина, Л.М. Мяснянкина //

- Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 46 – 48.
130. Журавлев, А.И. Развитие идей Б.Н. Тарусова о роли цепных процессов в биологии / А.Н. Журавлев // Биоантиоксислителители в регуляции метаболизма в норме и патологии. – М.: Наука, 1982. – С. 3 - 37.
131. Журавлев, Т.Д. Возрастные особенности свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах здоровых людей / Т.Д. Журавлева, С.Н. Суплютов, Н.С. Киянюк и др. // Вопр. мед. химии. – 2003. - № 5. – С. 17 – 18.
132. Заботина, Т.Н. Роль гликопротеидов, регулирующих апоптоз, в дифференцировке лимфоцитов человека. / Т.Н. Заботина, З.Г. Кадагидзе // Российский биотерапевтический журнал. – 2005. - Т. 4. - № 3. - С. 7 - 13
133. Забродин, В.А., Толстенкова Е. С., Юрчинский. В. Я. Анатомия лимфоидной, лимфатической системы и эндокринных желёз. / Учебное пособие: Смоленск: изд-во СГМА. – 2011. – 64с.
134. Забродин, В.А. Взаимосвязь компонентных параметров в долях и отделах тимуса человека / В.А. Забродин, В.Я. Юрчинский // Морфология. - 2009. - № 4. – С. 58.
135. Забродин, В.А. Сравнительно-морфологическое изучение взаимоотношений долей тимуса человека и млекопитающих / В.А. Забродин, В.Я. Юрчинский // Проблемы современной морфологии человека – М. : Изд. - во РГУФКСиТ. - 2008. – С. 84 - 85.
136. Забродин, З.В. Метаболические реакции и перекисное окисление липидов у дошкольников в момент обострения экологической ситуации / З.В. Забродина, Л.Г. Горохова, Е.Э. Ларионова // Гигиена и санитария. - 1993. - №5. - С. 37 - 39.



137. Загидуллин, З.Ш. К вопросу о заболевании органов дыхания у рабочих нефтепромыслов и нефтеперерабатывающих заводов / З.Ш. Загидуллин // Тр. Уфимского НИИ гигиены и проф. заболеваний. - Уфа. - 1963. - Т. 2. - С. 204 - 211.
138. Загускин, С.Л. Биологическое время: саморегуляция и управление /С.Л. Загускин // Пространство и время. – 2016. – Т. 22. - № 4. – С. 254 – 266.
139. Загускин, С.Л. Околочасовые ритмы клетки и их роль в стимуляции регенерации / С.Л. Загускин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины – 2000. – Т. 127. - № 7. – С. 121 - 123.
140. Загускин, С.Л. Взаимодействие окологосового и околосуточного ритмов. Кибернетическая модель / С.Л. Загускин, С.Н. Гринченко, В.Я. Бродский // Изв. РАН сер. биол. – 1991. - № 6. – С. 950 - 954.
141. Загускин, С.Л. О ритмах изолированной нервной клетки / С.Л. Загускин // Тез. докл. Всесоюзн. симпозиума «Механизмы временной организации клетки и их регуляции на различных уровнях». - Пушкино-на-Оке. – 1983. - С. 29.
142. Загускин, С.Л. Роль внутриклеточного кальция и энергетики нейрона в его адаптации к фармакологическим воздействиям / С.Л. Загускин //Ультраструктура нейронов и фармакологические воздействия. – Пушкино: Наука. - 1981. – С. 37 - 44.
143. Загускин, С.Л. Ритм перераспределения тигроида в живом нейроне механорецептора рака / С.Л. Загускин, Л.Е. Немировский, А.В. Жукоцкий и др. // Цитология. – 1980. - Т. 22. - № 3 – С. 982 - 988.
144. Зайцев, В.Б. Сравнительная морфофункциональная характеристика селезенки человека и млекопитающих животных / В.Б. Зайцев, Н.С. Федоровская, С.Д. Андреева и др. // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 78.
145. Зайцев, В.Г. Связь между химическим строением и мишенью действия на основе классификации антиоксидантов прямого действия /

- В.Г. Зайцев, О.В. Островский, В.И. Закревский // Эксперим. клин. фармакол. – 2003. – Т. 66. - № 4. – С. 66 - 70.
146. Замечник, Т.В. Гипоксия как пусковой фактор развития эндотелиальной дисфункции и воспаления сосудистой стенки (обзор литературы) / Т.В. Замечник, Л.Н. Рогова // Вестник новых медицинских технологий. - 2012. - Т. XIX. - № 2. –С. 393 - 394.
147. Захарова, Л.А. Эволюция адаптивного иммунитета / Л.А. Захарова // Известия РАН. Серия биологическая. – 2009. - № 2. – С. 143 – 154.
148. Зборовская, И.А. Антиоксидантная система организма и ее значение в метаболизме. Клинические аспекты / И.А. Зборовская, М.В. Банникова // Вестник РАМН. – 1995. - № 6. – С. 53 – 60.
149. Зенков, Н.К. Окислительный стресс / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. - М. : Наука, 2004. - 343с.
150. Зенков, Н.К. Окислительный стресс: Биохимический и патофизиологический аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. - М. : МАИК. Наука. «Интерпериодика". - 2001. - 343с.
151. Зенков, Н.К. Фенольные биоантиоксиданты / Н.К. Зенков, Н.В. Кандалинцева, В.З. Ланкин. – Новосибирск, 2003. – 328с.
152. Зенков, Н. К. Окислительный стресс при старении / Н. К. Зенков, П. М. Кожин, А. В. Чечушков и др. // Успехи геронтологии - 2020. - Т. 33. - № 1. - С. 10 – 22.
153. Зислин, Д.М. Клиника острых и хронических профессиональных интоксикаций сернистым газом / Д.М. Зислин, Н.П. Стерехова. - М. : Медицина. - 1977. - 135с.
154. Зозуля, Ю.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга / Ю.А. Зозуля, В.А. Барабой, Д.А. Стукова. - М.: Знание - М. - 2000. - 344с.
155. Ибатуллина, Р.Б. О защитном эффекте цитохрома С при экспериментальной интоксикации организма / Р.Б. Ибатуллина //

- Материалы Всероссийской научно-практической конференции. – Оренбург. – 2001. – Т. 1. - С. 231 - 234.
156. Иванов, И.И. Молекулярные механизмы действия токоферолов в биологических мембранах / И.И. Иванов, В.Е. Коган, С.К. Добрина, Ю.П. Козлов // Актуальные проблемы витаминологии: Тез. докл. Всес. Конф. 20-21 апреля 1978г. – М., 1978. – Т. 1. – С. 64 - 66.
157. Иванова, Е.А. Воздействие острого эмоционального стресса на брыжеечные лимфатические узлы у крыс с разной поведенческой активностью / Е.А. Иванова // Морфология. - 2010. - Т. 137. - № 4. - С. 80.
158. Ивановская, Т.Е. Патология тимуса у детей / Т.Е. Ивановская, О.В. Зайратьянц, Л.В. Леонова, И.Н. Волощук // СОТИС, 1996. - 270с.
159. Ивонина, Т.И. Состояние сердечно-сосудистой системы у рабочих производства элементарной серы / Т.И. Ивонина, Ф.С. Кузьмина, Т.И. Киселева // Вопр. гигиены труда и соц.- экон. развития урал. пром. региона. – Свердловск. - 1987. - С. 54 - 58.
160. Идрисов, А.А. Особенности структурных преобразований тимуса при экзотоксикозе и его коррекции / А.А. Идрисов, Б.Н. Нурмухамбетова, А.Т. Дюсембаева // Морфология. - 2010. - Т. 137. - № 4. - С. 81.
161. Изтлеуов, М.К. Экология и здоровье / М.К. Изтлеуов, Е.М. Изтлеуов // Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2006. - № 2. – С. 8 - 15.
162. Инаков, А.К. Анатомия и топография селезенки человека в постнатальном онтогенезе / А.К. Инаков // Онтогенез и возрастная анатомия кровеносной и лимфатической систем человека. – М. – 1983. – С. 32 - 36.
163. Каинова, Г.М. Активация эндогенного перекисного окисления липидов в мозге при окислительном стрессе, вызываемом введением железа и ее предотвращение витамином Е / Г.М. Каинова, Д.

- Марковска, Д. Станева // Бюлл. эксперим. биол. и мед. – 1990. - № 1. – С. 26 - 35.
164. Камнев, В.М. К вопросу о действии углеводов и сероводорода на гистоструктуру центральной нервной системы / В.М. Камнев, Т.М. Лютикова // Научные труды (Омский мед. институт). – 1965. - № 61. - С. 141 - 146.
165. Карманова, И.Г. Эволюция сна. Этапы формирования цикла бодрствование-сон в ряду позвоночных / И.Г. Карманова. - Л.: Наука, 1977. - 112с.
166. Карпенко, Г.Н. Состояние нервной системы у людей, подвергшихся воздействию природного газа с высоким содержанием сероводорода / Г.Н. Карпенко // Тез. докл. 68 науч. сессии Астраханского мед. института. - Астрахань. - 1987. - С. 226 - 228.
167. Кветная, Т.В. Мелатонин – роль и значение в возрастной патологии /Т.В. Кветная, И.В. Князькин. – СПб: ВмедА. – 2004. – 110с.
168. Кветной, И. М. Нейроиммуноэндокринология тимуса / И.М. Кветной, А.А. Ярилин, В.О. Полякова, И.В. Князькин. - СПб. : ДЕАН. - 2005. - 160с.
169. Кипиани, В.А. Изменение про- и антиоксидантного статуса тканей при паранеопластических процессах / В.А. Кипиани, К.Г. Гамбашидзе, Н.Д. Бежиташвили и др. // Бюлл. Эксперим. Биол. и мед. – 2006. – Т. 141. - № 1. – С. 27 – 31.
170. Киселева, Е.П. Механизмы инволюции тимуса при опухолевом росте / Е.П. Киселева // Успехи современной биологии. - 2004. - Т. 124. - № 6. – С. 589 - 601.
171. Кислый, Н.Д. Ультраниантные колебания кислотности желудка у больных циррозом печени алкогольного генеза / Н.Д. Кислый, Ю.С. Осман // Материалы XXI международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М. - 2003. – С. 251.

172. Киясова, В.И. Роль антиоксидантов в процессе адаптации клеток / В.И. Киясова, Л.И. Бикбулатова // Тез. докл. II Всесоюз. конф. «Биоантиоксиданты». – М. : Наука. – 1986. – Т. 2. – С. 103.
173. Клейн, А.В. Влияние хронического комплексного воздействия оксида серы и промышленной пыли на центральную нервную систему / А.В. Клейн, Т.И. Ивонина // Тез. докл. науч. конф. ЦНИЛ Свердловского мед. института - Свердловск. - 1989. - С. 68 - 69.
174. Козак, М.В. Возрастные и половые различия реакции нейроэндокринных центров гипоталамуса на  $\alpha$ -токоферол ацетат и препарат «тималин» / М.В. Козак, Д.Л. Теплый // Успехи геронтологии. – 2009. – Т. 22. - № 4. – С. 655 – 659.
175. Козлов, Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов в биомембранах в норме и патологии / Ю.П. Козлов // Биоантиоксиданты. – Тр. МОИП. – М. : Наука, 1975. – Т. 52. – С. 5 - 14.
176. Кольтовер, В.К. Антиоксидантная биомедицина: от химии свободных радикалов к системно-биологическим механизмам / В.К. Кольтовер // Изв. АН (серия «Химия»). – 2010. – №1. – С. 37 - 42.
177. Комаров, Ф.И. Десинхронизация биологических ритмов как ответ на воздействие факторов внешней среды / Ф.И. Комаров, С.И. Рапопорт, Е.Л. Бреус, С.М. Чибисов // Клиническая медицина. М. - 2017. – Т. 95. - № 6. - С. 502 - 512.
178. Комелькова, М.В. Определение уровня иммунного ответа и кислородзависимых процессов во внутренних органах крыс в зависимости от чувствительности к гипоксии: автореф. дисс. кан. биол. наук. / М.В. Комелькова. - Челябинск. - 2015. – 24с.
179. Кондашевская, М.В. Гистофизиологические изменения тимуса и селезенки кастрированных крыс Вистар при воздействии информационной нагрузки / М.В. Кондашевская, А.М. Косырева // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 96.

180. Кондратенко, Е.И. Функциональные взаимосвязи эндокринных и свободнорадикальных процессов у крыс разного пола при изменении освещенности : моногр. / Е.И. Кондратенко. – Астрахань : Астраханский ун-т. - 2003. – 195с.
181. Кондратенко, Е.И. Циркадианные особенности интенсивности перекисного окисления липидов у инфантильных и половозрелых белых крыс в условиях световой депривации / Е.И. Кондратенко, И.А. Малышева, Н.А. Ефремова // Эколого-биологические проблемы бассейна Каспийского моря: Материалы VII международной научной конференции 13-14 октября 2004г. – Астрахань. - 2004. - С. 60 - 62.
182. Конторщиков, П.К. Относительное содержание лимфоцитов в лимфоидных узелках слепой кишки после аппендэктомии / П.К. Конторщиков, В.А. Крыжановский // Морфология. - 2010. - Т. 137. - № 4. - С. 97.
183. Коплик, Е.В. Клеточный состав лимфоидных образований селезенки крыс при воздействии острого эмоционального стресса / Е.В. Коплик, А.А. Бахмет // Морфология. - 2008. - Т. 133. - № 4. - С.75.
184. Коптеева, Е.Г. Прямое доказательство непосредственного действия сероводорода на центральную нервную систему / Е.Г. Коптеева // Материалы XV науч. конф. физиологов, биохимиков и фармакологов Юга РСФСР. Махачкала. - 1965. - С. 158 - 159.
185. Коркушко О.В. Пептидные препараты тимуса и эпифиза в профилактике ускоренного старения / О.В. Коркушко, В.Х. Хавинсон. – СПб. : Наука, 2002. – 202с.
186. Корякина, Е.В. Особенности патогенетических механизмов эндогенной интоксикации у больных ревматоидным артритом / Е.В. Корякина, С.В. Белова // Научно-практическая ревматология. – 2001. - № 1. – С. 9 – 17.
187. Костенко, Г.А. Синхронные колебательные изменения параметров клеток асцитной карциномы Эрлиха / Г.А. Костенко, Л.Л. Литинская,

- А.М. Векслер и др. // Докл. АН СССР. – 1973. - Т. 211. - № 8. - С. 714 - 717.
188. Косырева, А.М. Морфофункциональные изменения органов иммунной системы самок крыс Вистар в разные сроки эстрального цикла и при кастрации / А.М. Косырева, Е.Ю. Симонова, О.В. Макарова // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 101.
189. Косырева, А.М. Морфофункциональные изменения тимуса и содержание субпопуляций лимфоцитов в крови у самок крыс Вистар с разной устойчивостью к гипоксии при системном воспалительном ответе / А.М. Косырева, Д.Ш. Джалилова, О.В. Макарова, А.С. Сладкопепцев // Медицинская иммунология. – 2019. – Т. 21. - №4. – С. 643 - 652.
190. Косых, М.И. Биоэнергетические свойства «темных» и «светлых» клеток / М.И. Косых, Ю.С. Ченцов // Докл. РАН. – 1991. – Т. 316. – С. 475 - 478.
191. Котельников, А.В. Влияние витамина Е на содержание продуктов перекисного окисления липидов плазмы крови в постнатальном онтогенезе / А.В. Котельников, Д.Л. Теплый // Успехи геронтологии. – 2005. – Вып. 17. – С. 61 - 66.
192. Кошелева, И.И. Структурно-функциональная перестройка лимфатического региона подвздошной кишки при воздействии токсической дозы селена / И.И. Кошелева // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 103.
193. Круглова, О.Г. Сравнительная характеристика влияния дигидрокверцетина и витамина Е на продукты перекисного окисления липидов в крови лабораторных животных при холодовом воздействии / О.Г. Круглова, В.А. Доровских, В.И. Тиханов и др. // Бюллетень физиологии и патологии дыхания. – 2011. - № 40. – С. 71 – 73.
194. Кудаева, И.В. Клинико-экспериментальные параллели биохимических изменений при действии нейротоксикантов различной

- природы / И.В. Кудяева, Л.Б. Маснабиева // Окружающая среда и здоровье человека: Материалы II Санкт-Петербургского международного экологического форума, в 2-х частях; Санкт-Петербург, 1-4 июля 2008 / Под ред. академика РАМН Г.А. Софронова. – СПб. : ВМедА. – 2008. – Часть I. – С. 87.
195. Кузин, А.М. Радиотоксины как регуляторы роста и развития / А.М. Кузин // Лучевые реакции. – М. : Наука. – 1987. – С. 113 – 123.
196. Кузьменко, И.В. Влияние токоферола, его аналогов и антиоксиданта ионола на ПОЛ *in vitro* / И.В. Кузьменко // Укр., биохим. журн. – 1993. – Т. 65. - № 3. – С. 94 - 99.
197. Кузьменко, И.В. Влияние  $\alpha$ -токоферола и его аналогов на стабильность мембран митохондрий *in vitro* / И.В. Кузьменко, Е.П. Клименко, С.М. Алексеев и др. // Биол. мембр. – 1994. – Т. 11. - № 2. – С. 169 - 173.
198. Куклей, М.Л. Перекисное окисление липидов в мозге крыс с различной устойчивостью к эмоциональному стрессу / М.Л. Куклей, С.Л. Стволинский, А.А. Болдырев, И.В. Ганушкина // Бюлл. Эксперим. Биол. и мед. – 1994. - № 10. – С. 65 - 66.
199. Куклина, Е.М. Молекулярные механизмы Т-клеточной анергии / Е.М. Куклина // Биохимия. - 2013. - Т. 7. - № 2. - С. 204 - 219.
200. Кулагин, В.Ю. Результаты исследований микроциркуляции в конъюнктиве склеры и чувствительности роговой оболочки глаза у работников АГПЗ / В.Ю. Кулагин, Н.В. Камнева, Л.Ф. Кулагина // Материалы юбилейной науч. конф. АГМИ (к 75-летию со дня основания). - Астрахань. - 1993. - С. 186 - 188.
201. Кулаева, О.И. Ритмичность синтеза белка в клетках листьев растений / О.И. Кулаева, Н.Л. Клячко // Колебательные процессы в биологических и химических системах. - Пушино-на-Оке, - 1967. - С. 134 - 137.



202. Куперман, Ю.В. Нервная система при окислительном стрессе, вызванном нарушением уровня витамина Е (обзор) / Ю.В. Куперман // Естественные науки. – Астрахань: АГПУ, - 1999. - № 11. – С. 55 - 62.
203. Курзанов, А.Н. Функциональные резервы организма / А.Н. Курзанов, Н.В. Заболотских, Д.В. Ковалев. – М.: Издательский дом Академии Естествознания. – 2016. – 96с.
204. Курьянова, Е.В. Влияние блокады синтеза катехоламинов на регуляцию сердечного ритма и свободнорадикальные процессы у самцов и самок крыс в условиях покоя и острого стресса / Е.В. Курьянова, Д.Л. Теплый, В.Ф. Савин // Естественные науки. Журнал фундаментальных и прикладных исследований – 2009. – № 2 (27). - С. 123 – 130.
205. Кустов, В.В. Комбинированное действие промышленных ядов / В.В. Кустов, Л.А. Тиунов, Г.А. Васильев. М.: Медицина. - 1975. - 256с.
206. Куценко, С.А. Основы токсикологии / С.А. Куценко. - Санкт-Петербург : Фолиант. - 2004. – 570с.
207. Кушнир, Л.А. Химическое загрязнение атмосферы Астрахани и риск здоровью / Л.А. Кушнир, А.Н. Гребенюк // Окружающая среда и здоровье человека: Материалы II Санкт-Петербургского международного форума, Санкт-Петербург, СПб. : ВМедА. – 2008. – Часть I. – 55с.
208. Ланкин, В.З. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. Изд. 2-е / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Ю.Н. Беленков. - М., 2001. – 78с.
209. Ланкин, В.З. Свободнорадикальное окисление в патогенезе атеросклероза / В.З. Ланкин, А.К. Тихазе, Г.Г. Коновалова // Материалы Научн. Конф. «Актуальные вопросы сердечно-сосудистой патологии». – М. : МГУ. – 1998. – С. 12 – 13.

210. Левин, Г.Г. Спектральный анализ ультрадианных колебаний сухой массы и размера клеток крови / Г.Г. Левин, Ф.В. Булыгин, Г.Н. Вишняков, Е.В. Калинин // Известия РАН Сер. Биол. – 2000.
211. Левицкий, Е.Л. Свободнорадикальные повреждения ядерного генетического аппарата клетки / Е.Л. Левицкий, Ю.И. Губский // Укр. биохим. журн. —1994. —Т. 66. - № 4. - С. 18 - 30.
212. Лейдерман, И.Н. Синдром гиперметаболизма – универсальное звено патогенеза критических состояний / И.Н. Лейдерман, И.Н. Руднов, В.А. Клейн и др. // Вестник интенсив. терапии. – 1997. - № 3. – С. 17 – 23.
213. Ленинджер, А. Основы биохимии : в 3-ех томах. Пер. с англ. / А. Ленинджер - М. : Мир. - 1985. - 1056с.
214. Литинская, Л.Л. Влияние изменения рН в среде и цитоплазме культивируемых клеток на ритм синтеза белка /Л.Л. Литинская, А.М. Векслер, Н.В. Нечаева и др. // Цитология. – 1987. – Т. 29. – С. 917 - 921.
215. Логинов, П.В. Биохимические маркеры окислительного стресса в системе гипоталамус-гипофиз-семенники / П.В. Логинов, А.А. Николаев // Астраханский медицинский журнал. – 2013. – Т. 8. - № 3. – С. 62 - 68.
216. Логинов, П.В. Функциональные особенности и пути коррекции репродуктивных процессов при стрессогенных воздействиях / П.В. Логинов: Автореф. дисс. д.б.н. – Астрахань. – 2016. – 44с.
217. Ломтева, Н.А. Влияние стресс-индуцирующих факторов и α-токоферола на поведение и свободнорадикальные процессы у самок белых крыс в разные фазы эстрального цикла / Н.А. Ломтева: Дисс...к.н.д. биол. наук. – Астрахань. - 2003. - 123с.
218. Лукьянова, Л.Д. Биоэнергетические механизмы формирования гипоксических состояний и подходы к их фармакологической коррекции / Л.Д. Лукьянова. – В кн.: Фармакологическая коррекция гипоксических состояний под ред. проф. Л.Д. Лукьяновой. – М. : АМН СССР. – 1989. – С. 11 – 44.

219. Лукьянова, Л.Д. Митохондриальные дисфункции при гипоксии – типовой патологический процесс / Л.Д. Лукьянова // Митохондрии и патология. Пушино. - 2001. – С. 66 - 67.
220. Лукьянова, Л.Д. Новое о сигнальных механизмах адаптации к гипоксии и их роли в системной регуляции / Л.Д. Лукьянова, Ю.И. Кирова, Г.В. Сукоян // Патогенез. - 2011. - Т. 9. - № 3. - С. 4 - 14.
221. Магомедова, П.Г. Морфологические изменения белой пульпы селезенки крысы в восстановительном периоде после химической интоксикации / П.Г. Магомедова, М.В. Абрамова // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 118 – 119.
222. Маеда, Х. Оксид азота и кислородные радикалы при инфекции, воспалении и раке / Х. Маеда, Т. Акаике // Биохимия. – 1998. – Т. 63. - Вып. 7. – С. 1007 – 1019.
223. Мажитова, М.В. Свободнорадикальные процессы и антиоксидантная защита разных отделов центральной нервной системы на этапах постнатального онтогенеза белых крыс в норме и при действии промышленных серосодержащих поллютантов / М.В. Мажитова: Автореф. дисс. д.б.н. – Астрахань. – 2012. – 44с.
224. Мажитова, М.В. Хроническое влияние природного газа Астраханского месторождения на антиоксидантную активность и Redox-потенциал плазмы крови и ткани мозга в эксперименте / М.В. Мажитова, Д.Л. Теплый, Н.Н. Тризно и др. // Естеств. и техн. науки. - 2011. - Т. 56. - № 6. - С. 149 - 153.
225. Мажуль, Л.М. Некоторые показатели липидного обмена у больных с гастродуоденальной патологией / Л.М. Мажуль, К.К. Далидович, В.В. Гулько // Вопр. мед. химии. – 1991. - № 4. – С. 10 – 11.
226. Макарова, Н.П. Синдром эндогенной интоксикации при сепсисе / Н.П. Макарова, И.Н. Коничева // Анестезиология и реаниматология. – 1995. - № 6. – С. 4 – 6.

227. Максимов, И.В. Влияние  $\text{Ca}^{2+}$  на метаболизм активных форм кислорода в совместных культурах каллусов пшеницы с грибом *Tilletia caries* / И.В. Максимов, Н.Б. Трошина, О.Б. Сурина и др. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2010. – Т. 46. - № 5. – С. 577 – 583.
228. Максимова, Е.В. Функциональное созревание неокортекса в пренатальном онтогенезе / Е.В. Максимова. – М. : Наука, 1979. – 144с.
229. Марков, Х.М. Эндогенные ингибиторы оксида азота и их значение в патологии / Х.М. Марков // Российский педиатрический журнал. – 2005. - № 5. – С. 31 – 35.
230. Матюшин, Б.Н. Цитохром  $\text{P}_{450}$  – зависимое гидроксилирование и активность глутатион-зависимых ферментов печени при ее хроническом поражении / Б.Н. Матюшин, А.С. Логинов, А.Д. Ткачев // Вопр. мед. химии - 1997.- Т. 43. - № 4.- С. 256 - 260.
231. Маянская, Н.Н. Некоторые механизмы вовлечения лизосом в процессы тканевого повреждения / Н.Н. Маянская, Л.Е. Панан, Ю.А. Николаев, С.Д. Маянская // Вопр. мед. химии. – 1990. - № 6. – С. 5 – 8.
232. Меерсон, Ф.З. Адаптация к стрессовым ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Б. Пшенникова. - М.: Медицина. - 1988. - 254с.
233. Мейланов, И.С. Влияние введения антиоксидантов на свободнорадикальные процессы в мозге крыс при гипотермии / И.С. Мейланов, Н.К. Кличханов, Ж.Г. Исмаилова и др. // Биоантиоксидант: Тез. докл. VIII Международной конф. Москва, 4-6 октября, 2010. – М. : РУДН. – 2010. – С. 292 – 293.
234. Меньшиков, В.В. Методические указания по применению унифицированных клинических лабораторных методов исследований / В.В. Меньшиков. – М. – 1973. – С. 45 - 47.
235. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс, патологическое состояние и заболевания / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, И.А. Бондарь, В.А. Труфанкин. – Новосибирск: АРТА. – 2008. – 284с.

236. Меньшикова, Е.Б. Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / Е.Б. Меньшикова, В.З. Ланкин, Н.К. Зенков, И.А. Бондарь и др. – М.: СЛОВО. – 2006. – 556с.
237. Меркулова, Л.М. Морфологические изменения белой пульпы селезенки потомства крыс-самок, подвергшихся до беременности воздействию 1,2-диметилгидразин /Л. М. Меркулова, М. Н. Михайлова, Г. Ю. Стручко и др. // Журнал анатомии и гистопатологии. – 2017. – Т. 6. - № 2. – С. 50 – 55.
238. Методы определения токсичности и опасности химических веществ. Токсикометрия. / И.В. Саноцкий. - М.: Медицина. - 1970. - 243с.
239. Мищенко, А. А. Температурная зависимость транспорта  $H^+$  через мембрану эритроцитов травяной лягушки *Rana temporaria* в  $Cl^-$  и  $SO_4^{2-}$ -содержащих средах / А.А. Мищенко, Л.И. Иржак // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2005. - Т. 140. - № 10. - С. 371 -373.
240. Могош, Г. Острые отравления. Диагноз. Лечение / Г. Могош. – Бухарест. – Изд-во: Медицина. - 1984. - 579с.
241. Морозов, В.Г. Пептидные биорегуляторы в профилактике и лечении возрастной патологии / В.Г. Морозов, В.Х. Хавинсон // Успехи геронтологии. – 1997. - № 1. – С. 74 – 79.
242. Морозова, В.Т. Лимфатические узлы. Цитологическая диагностика / В.Т. Морозова, С.А. Луговская. - М.: Триада, 2003. - 70с.
243. Морфологические и биохимические критерии детоксикационной функции брыжеечных лимфатических узлов под влиянием селена / И.Н. Путалова и соавт. // Морфология. - 2008. - № 2.- Т. 133. - С. 110.
244. Москвичёв, Е.В. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика вилочковой железы при экспериментальном канцерогенезе в условиях вторичной иммунной недостаточности: / Е.В. Москвичёв: Дисс. докт. мед. наук. // Оренбург. - 2013. – 175с.

245. Муруев, Б.А. Структурные изменения тимуса белых крыс на фоне иммобилизационного стресса и их коррекция растительным средством / Б.А. Муруев, Я.Г. Разуваева, А.А. Торопов // Морфология. – 2018. – Т. 153. - № 3. – С. 191 – 192.
246. Мустафин, А.Г. Околочасовые ритмы интенсивности синтеза РНК и белков в популяциях нервных клеток разных отделов нервной системы крыс и их взаимоотношения с суточными ритмами транскрипции и трансляции / А.Г. Мустафин, О.В. Бульчук // Материалы Международной науч.-практ. конф. «Инновационные технологии в науке и образовании». - Чебоксары : ЦНС «Интерактив плюс». – 2015. – С. 12 – 14.
247. Надиров, Н.К. Токоферолы и их использование в медицине и сельском хозяйстве / Н.К. Надиров. – М. : Наука. – 1991. – 336с.
248. Наумова, Е.М. Влияние АКТГ на местный нейромедиаторный гомеостаз тимуса / Е.М. Наумова, В.Е. Сергеева, С.А. Ястребова // Здравooхранение Чувашии. 2005. - № 2. - С. 44 - 50.
249. Наумов, А.В. Особенности взаимодействия компонентов микроокружения в тимусе в условиях гипоксии / А.В. Наумов, О.А. Овсянникова, Т.А. Шишкина, Л.И. Наумова // Морфология. – 2020. – Т. 157. - № 2-3. – С. 151.
250. Недзвецкий, В.С. Влияние витамина Е на содержание и полипептидный состав глиального фибриллярного кислого белка головного мозга крыс в условиях интоксикации хлоридом алюминия / В.С. Недзвецкий, А.А. Тихомиров, П.А. Неруш // Нейрофизиология. – 2005. – Т. 37. - № 1. – С. 15 – 20.
251. Нестеров, Ю.В. Метаболические функции и стресс-реактивность легких на разных этапах постнатального онтогенеза / Ю.В. Нестеров: Дисс...к.н.д. биол. наук. – Астрахань - 2003. – 277с.
252. Нестеров, Ю.В. Стресс-индуцированные изменения активности легочной моноаминоксидазы и уровня серотонина на разных этапах

- постнатального онтогенеза / Ю.В. Нестеров // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 75 – 77.
253. Нечаева, Н.В. Биологические ритмы в секреторной функции слюнной железы (количественное цитохимическое исследование): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук: 03.00.11 / Н.В. Нечаева. - М. АН СССР, ин-т биологии развития им. Н.К. Кольцова. - 1977. – 40с.
254. Нечаева, Н.В. Ритмичность синтеза белка в клетках изолированных жабр мидий и ее изменения при смене солености среды / Н.В. Нечаева, В.И. Фатеева, В.Я. Бергер, А.Д. Харазова // Цитология. – 1982. - Т. 24. - С. 104 - 105.
255. Нейфах, Е.А. Большие радиопатогенные нагрузки детей от «малых доз» техногенной хронической радиации / Е.А. Нейфах // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2003. – Т. 43. - № 2. – С. 193 – 196.
256. Никифорова Н.В. Перекисное окисление липидов в злокачественных опухолях почек человека / Н.В. Никифорова, Л.А. Ходарева, В.И. Кирпатовский и др. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2001. - Т. 132. - № 11. - С. 565 - 568.
257. Новиков, А.В. Влияние загрязнения атмосферы на здоровье человека / А.В. Новиков, В.А. Новикова // Астраханский медицинский журнал. - 2007. - № 2.- С. 133 - 134.
258. Новиков, В.С. Программированная клеточная гибель / В.С. Новиков – СПб.: Наука, 1996. – 276с.
259. Новикова, Т.Е. Околочасовые колебания выделения белка из гепатоцитов в монослойной культуре / Т.Е. Новикова, Н.В. Нечаева, В.И. Фатеева, В.Я. Бродский // Цитология. - 1982. - Т. 24. - № 1. - С. 35 - 40.
260. Обухова, Л.А. Морфологическое исследование эпителиального компонента тимуса при холодовых воздействиях и фармакологической

- коррекции / Л.А. Обухова // Бюлл. СО РАМН. - 2001. – Т. 102. - № 4. - С. 78 - 83.
261. Обухова, Л.А. Взаимоотношение эндокринной и лимфоидной систем в процессах адаптации / Л.А. Обухова, В.Г. Селятицкая // Проблемы лимфологии и интерстициального массопереноса. Новосибирск, 2004. - Ч. 1. - С. 291 - 294.
262. Оглоблина, Т.А. Околочасовые колебания величины рН в лизосомах культивируемых клеток / Т.А. Оглоблина, Л.Л. Литинская, А.М. Векслер. // Механизмы временной организации клетки и их регуляция на различных уровнях. Тез. докл. на Всесоюзн. симпозиуме. - Пушкино-на Оке. – 1983. - С. 14.
263. Ойвин, И.А. Проникновение и метаморфизация сероводорода в организме / И.А. Ойвин // Фармакология и токсикология. – 1943. – Т. 6. - № 3. – С. 54 – 59.
264. Ойвин, И.А. О механизме физиологического действия сероводородных (Мацестинских) ванн / И.А. Ойвин, А.И. Гунина, В.А. Тихонравов // Вопр. Курортологии, физиотерапии и лечеб. физ.культуры. – 1955. - № 2. – С. 13 – 20.
265. Омирбаева, С.М. Риск развития экологически обусловленных заболеваний (обзор литературы) / С.М. Омирбаева // Медицина труда и промышленная экология. – 2004. - № 11. – С. 28 - 32.
266. Осипенко, М.Д. Влияние серосодержащего газа на состояние перекисного окисления липидов в костном мозге на различных этапах онтогенеза / М.Д. Осипенко, О.А. Овсянникова // Астраханский медицинский журнал. - 2008. – Т. 3. - № 4. – С. 16 – 19.
267. Осипов, А.Н. Активные формы кислорода и их роль в организме / А.Н. Осипов, О.А. Азизова, Ю.А. Владимиров // Успехи биол. Химии. – 1990. – Т. 31. – С. 180 – 208.
268. Пальцев, М.А. Руководство по нейроэндокринологии / М.А. Пальцев, И.М. Кветной // М. : ООО «Издательство Медицина». - 2008. - 512с.



269. Перепелкин, С.В. Нарушение функции высших отделов ЦНС при воздействии сероводородсодержащего газоконденсата и их коррекции / С.В. Перепелкин. – Автореф. дис. канд. мед. наук. – Оренбург. – 1992. – 25с.
270. Перковская, А.Ф. Донозологическая диагностика нарушений в иммунной системе у детей из регионов с экологически напряженной обстановкой / А.Ф. Перковская, Е.Е. Сагалович, И.Н. Майстрова и др. // Иммунология. - 1998. -№ 6. - С. 33 - 34.
271. Перцов, С.С. Влияние мелатонина на состояние тимуса, надпочечников и селезенки у крыс при острой стрессорной нагрузке / С.С. Перцов // Бюл. экспериментальной биологии и медицины. — 2006. - № 3. - С. 263 - 266.
272. Петренко, В.М. Строение лимфатических узлов: при воздействии инфразвука на живой организм / В.М. Петренко // Проблемы лимфологии и ин-терстициального массопереноса. Новосибирск, 2004. - Ч. 2. - С. 24 - 26.
273. Петренко, В.М. Селезенка как противоточная гемоциркуляторная система / В.М. Петренко // Современные наукоемкие технологии. – 2012. - № 7. – С.15.
274. Петров, Б.А. Гигиена труда в производстве газовой элементарной серы. Автореф. дис. канд. мед. наук. / Б.А. Петров. - Свердловск. - 1979. - 16с.
275. Петросян, Э.А. Диагностическая ценность оценки проницаемости мембран эритроцитов в качестве критерия интоксикационного синдрома / Э.А. Петросян, Н.А. Неделько // Клин. лаб. диагностика. – 2001. - № 8. – С. 5.
276. Петрунь, Н.М. Показатели отравления сероводородом при поступлении его в организм через кожу / Н.М. Петрунь // Фармакология и токсикология. - 1965. – Т. 28. - № 4. - С. 488 - 490.

277. Петрунь, Н.М. Проникновение сероводорода через кожу и его влияние на газовый и энергетический обмен / Н.М. Петрунь // Фармакология и токсикология. - Киев. - 1966. - Вып.2. - С. 247 - 250.
278. Поберезкина, Н.Б. Биологическая роль супероксиддисмутазы / Н.Б. Поберезкина, Л.Ф. Осинская // Укр. Биохим. Журн. Киев. – 1989. – Т. 61. - № 2. – С. 14 – 27.
279. Подколзин, А.А. Антиоксидантная защита организма при старении и некоторых патологических состояниях, с ним связанных / А.А. Подколзин, В.И. Донцов, В.Н. Крутько // Клин. геронтол. – 2001. - № 3. – С. 50 – 58.
280. Полуниин, И.Н. Токсический отек легких при остром отравлении сероводородсодержащим газом / И.Н. Полуниин, Р.И. Асфандияров, Н.Н. Тризно. – Астрахань: АГМА. - 1999. - 219с.
281. Полякова, В.О. Тимус и старение: нейроиммуноэндокринные механизмы / В.О. Полякова, И.М. Кветной. – СПб. : Система, 2004. – 102с.
282. Полякова, В.О. Экспрессия серотонина и эндотелина-1 в тимусе человека при старении / В.О. Полякова // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20. - № 1. – С. 47 – 51.
283. Полякова, Н.А. Оценка эффективности эндоэкологической реабилитации по Левину у детей с вентиляционными нарушениями / Н.А. Полякова, Л.Д. Давыдова // Проблемы охраны здоровья и окружающей среды: Сб. науч. трудов посв. 20-летию ООО «Астраханьгапром». – Астрахань. – 2001. – С. 204 – 207.
284. Попов, С.А. Активность глутатионовой антиоксидантной системы при гипертиреозе и при действии мелатонина / С.А. Попов, А.Н. Пашков, Т.Н. Попова и др. // Проблемы эндокринологии. – 2008. – Т. 54. - № 3. – С. 47 – 51.

285. Потапнев, М.П. Апоптоз клеток иммунной системы и его регуляция цитокинами / М.П. Потапнев // Иммунология. – 2002. - № 4. – С. 237 - 243.
286. Провалова, Н.В. Влияние препаратов природного происхождения на эритропоэз в условиях конфликтной ситуации и возможные механизмы их действия / Н.В. Провалова, М.Ю. Минакова, Е.Г. Скурихин, О.В. Першина // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2003. – № 8. – С. 190–194.
287. Производственный экологический мониторинг в зоне воздействия объектов НГДУ «Кенкияк-нефть», 2003-2007г.г.
288. Пугач, П.В. Строение краниальных брыжеечных лимфатических узлов у новорожденных крыс / П.В. Пугач // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. - 2011. - № 1 (37). - С. 71 - 74.
289. Пугач, П.В. Влияние длительности этаноловой интоксикации на крыс и иммунные органы их потомства (экспериментально-морфологическое исследование): автореф. дис.докт. мед. наук / П.В. Пугач. - СПб., 2012. - 44с.
290. Путалова, И.Н. Структурные преобразования брыжеечных лимфатических узлов крыс при воздействии противоопухолевого препарата бортезомиба / И.Н. Путалова, Н.И. Харчикова, Н.И. Еремеев // Морфология.- 2008.- № 5. - С. 89.
291. Пушкарев, А.С. Токсикологические аспекты воздействия природным газом с высоким содержанием сероводорода / А.С. Пушкарев, М.А. Анненкова // Тез. док. обл. науч. - практ. конф. сотр. мединститута и врачей Астр, области. Астрахань. - 1989. - С. 202 - 204.
292. Пушкарев, А.С. Маркеры острого отравления природным газом Астраханского месторождения / А.С. Пушкарев, В.А. Пушкарев // Материалы юбилейной научной конференции Астраханского государственного медицинского института (к 75-летию со дня основания). – Астрахань. – 1993. – С. 198 – 201.

293. Радыш, И.В. Особенности местного иммунитета у студентов из различных климатических регионов / И.В. Радыш, Ф.Ю. Даурова, Г.В. Никулина // Технол. живых систем. - 2008. - Т.5. - №4. - С. 45 – 49.
294. Рапопорт, С.И. Включение аминокислот в белки слизистой желудка у больных хроническим гастритом / С.И. Рапопорт, Н.В. Нечаева, В.И. Фатеева и др. // Клин. медицина. – 1987. – Т. 65. - № 6. – С. 64 - 67.
295. Расулов, К.К. Морфогенез периферических органов иммунной системы потомства в условиях хронического токсического воздействия на организм матери / К.К. Расулов, С.Х. Ишанжанова, Н.К. Тухтаев и др. // Морфология. - 2012. - Т. 141. - № 3. - С. 132.
296. Резаев, А.А. Возрастные изменения показателей периферической крови у детей, проживающих в санитарно-защитной зоне Астраханского газового комплекса / А.А. Резаев, В.В. Балашов, И.С. Каминская // Педиатрия. 1996. -№1. - С. 66 - 67.
297. Резаев, А.А. Некоторые показатели ПОЛ при остром отравлении газоконденсатом / А.А. Резаев, В.А. Пушкарев, А.С. Пушкарев // Сборник материалов конф. «Влияние антропогенных факторов на морфогенез и структурные преобразования органов». – Астрахань. – 1991. – С. 131 – 132.
298. Родзаевская, Е.Б. Особенности акцидентальной инволюции вилочковой железы при пероральном применении ацетата свинца в эксперименте / Е.Б. Родзаевская, И.А. Уварова, Т.П. Романова // Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2017. – № 4 (61). - С. 166-171.
299. Романов, Ю.А. Пространственно-временные закономерности чувствительности организма к действию экологических факторов как механизм его реактивности / Ю.А. Романов, В.В. Маркина, А.И. Антохин и др. // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-

- физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 435 – 436.
300. Ротт, Н.Н. Ритмические процессы в раннем эмбриогенезе, приуроченные к клеточным делениям / Н.Н. Ротт // Онтогенез. – 1984. - Т. 15. - № 1. - С. 5 - 20.
301. Савельев, О.Н. Состояние вегетативной нервной, сердечно-сосудистой и дыхательной систем у рабочих, занятых на переработке природного газа с высоким содержанием сероводорода / О.Н. Савельев, Л.П. Паршенко, Л.Л. Богомолов и др. - Физиология вегетативной нервной системы. – Куйбышев. - 1979. - Т. 2. - С. 125 - 126.
302. Савельев, О.Н. Состояние работоспособности у рабочих ОГПЗ / О.Н. Савельев, Л.П. Партенко, Г.Н. Филиппова. - Ученые производству. – Оренбург. - 1980. - С. 39 - 41.
303. Сагитова, Г.Р. Здоровье подростков, проживающих в Нижнем Поволжье / Г.Р. Сагитова, В.М. Мирошников, А.Г. Сердюков // Южно-Российский медицинский журнал. - 2004. - № 5 - 6. — С. 4 - 6.
304. Садовникова, И.П. Влияние геропротекторов - антиоксидантов на иммунные реакции / И.П. Садовникова // Итоги науки и техники. Общие проблемы биологии. – М.: 1986. – С. 69 – 109.
305. Самотруева, М.А. Имунорегуляторное действие фенибута в условиях липополисахарид-индуцированного иммунного стресса / М.А. Самотруева, И.Н. Тюренков, Д.Л. Теплый и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2010. – Т. 73. - № 5. – С. 30 - 32.
306. Саноцкий, И.В. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм / И.В. Саноцкий, В.Н. Фоменко. – М. : Медицина. - 1979. – 232с.
307. Сарин, М.И. К вопросу об острой интоксикации сероводородом / М.И. Сарин, Н.В. Сарина, Н.Д. Тополянский и др. // Клинич. медицина. 1972. - Т. 50. - № 1. - С. 99 - 101.

308. Сапин, М.Р. Лимфатическая система и ее роль в иммунных процессах / М.Р. Сапин // Морфология: материалы докладов XI Конгресса межд. ассоц. морфологов (г. Самара, 29-31 мая 2012г.). - СПб. - 2012. - Т.141. - №3. - С.139.
309. Сапин, М.Р. Иммунная система, стресс и иммунодефицит / М.Р. Сапин, Д.Б. Никитюк. - М.: Джангар, 2000. - 184с.
310. Сванидзе, И.К. Изучение сухого веса живых глиальных клеток. / И.К. Сванидзе, Е.В. Дидимова // Цитология. – 1974. - Т. 16. - № 24. - С. 167 - 192.
311. Свириин, С.В. Строение брыжеечных лимфатических узлов у новорождённых крыс при воздействии алкоголя на систему «мать-плод» (экспериментально-морфологическое исследование): Автореф. дис. канд. мед. наук / С.В. Свириин. - СПб. - 2010. - 22с.
312. Сейдахметова, З.Ж. Влияние витаминов С и Е на содержание ТБК - активных продуктов в тканях молочной железы при действии солей тяжелых металлов / З. Ж. Сейдахметова, Г. К. Ташенова, Ш. С. Шыныбекова и др. // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 470 - 471.
313. Селиванова, Е.И. Нарушение окислительного гомеостаза и соматический мутагенез у сотрудников атомной промышленности / Е.И. Селиванова, И.А. 296. Замулаева, И.В. Леках и др. // Биоантиоксидант: Тез. докл. VIII Международной конф. Москва, 4-6 октября, 2010. – М. : РУДН. – 2010. – С. 426 – 428.
314. Сентюрова, Л.Г. Структура сосудистых сплетений головного мозга белых крыс при гипоксии / Л.Г. Сентюрова, Ю.В. Шерышева, Х.М. Галимзянов и др. // Научно-теоретический журнал «Морфология». – 2018. – Т. 153. - № 3. – С. 250.

315. Сетко, Н.П. Медицина труда и экологии человека в газовой промышленности / Н.П. Сетко, В.М. Боев. – Москва : Медицина. – 2009. – 420с.
316. Сидорик, Е.П. Биохемилюминесценция клеток при опухолевом процессе / Е.П. Сидорик, Е.А. Баглей, М.И. Данко // Киев: Наука Думка. – 1989. - 45с.
317. Сеницкая, Н.С. Роль пептидов в свободнорадикальном окислении и старении организма / Н.С. Сеницкая, В.Х. Хавинсон // Успехи совр. Биол. – 2002. – Т. 122. - № 6. – С. 557 – 568.
318. Скальный А.В., Кудрин А.В. Радиация, микроэлементы, антиоксиданты и иммунитет (микроэлементы и антиоксиданты в восстановлении здоровья ликвидаторов аварии на ЧАЭС) / А.В. Скальный, А.В. Кудрин. - М. : Изд-во Лир Макет. - 2000. - С. 59 - 60.
319. Смирнов, В.М. Классификация биоритмов / В.М. Смирнов // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 491 - 492.
320. Солнышкова, Т.Г. Ультраструктурные изменения нейроглии, нервных волокон и эндотелиальных клеток сенсомоторной зоны коры больших полушарий мозга при воздействии серосодержащего газа и при использовании протекторов / Т.Г. Солнышкова, В.А. Шахламов, Е.П. Володина // Морфология. – 2000. – Т. 117. - № 7. – С. 78.
321. Солнышкова, Т.Г. Демиелинизация нервных волокон ЦНС при хроническом воздействии природного сероводородсодержащего газа / Т.Г. Солнышкова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2003. - № 10. – С. 374 – 378.
322. Сорокина, И.В. Роль фенольных антиоксидантов в повышении устойчивости органических систем к свободнорадикальному окислению / И.В. Сорокина, А.П. Крысин, Т.Б. Хлебников и др. // Новосибирск: РАН, 1997. - 68с.

323. Стальная, И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Т. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина – 1977. – С. 66 – 68.
324. Старская, И.С. Морфологические аспекты атрофии тимуса при стрессе / И.С. Старская, А.В. Полевщиков // Иммунология. - № 5. - 2013. – С. 271 - 277.
325. Строев, Е.А. Практикум по биологической химии / Е.А. Строев, В.Г. Макарова – М. : Высшая школа. – 1986. – 230с.
326. Стручко, Г.Ю. Морфологическая и иммуногистохимическая характеристика тимуса при химическом канцерогенезе, вызванном введением 1,2-диметилгидразина. / Г.Ю. Стручко, Л.М. Меркулова, Е.В. Москвичёв // Морфология. - 2014. - Т. 146. - № 5. - С. 35 - 39.
327. Стручко, Г.Ю. Общегистологическое и люминесцентно-гистохимическое исследование тимуса крыс при экспериментальном канцерогенезе в условиях врожденного иммунодефицита / Г.Ю. Стручко, Е.Г. Драндрова, Л.М. Меркулова и др. // Электронный журнал «Современные проблемы науки и образования». - 2018. - №2.
328. Стефани, Д.В. Клеточные мембраны при иммунном ответе / Д.В. Стефани, И.И. Зернов // Проблемы мембранной патологии в педиатрии. – М.: Медицина. - 1984. - С. 151 - 161.
329. Сундуков, В.А. К вопросу о патоморфологических изменениях при острых отравлениях природным газом с высоким содержанием сероводорода / В.А. Сундуков, Г.П. Джувалыков, В.В. Полосухин // Тез. докл. 68 науч. сессии Астраханского мед. института. – Астрахань. - 1987. - С. 225 - 226.
330. Сурай, П.Ф. Биологическая роль витамина Е в размножении человека и животных / П.Ф. Сурай, И.А. Ионов, С.Н. Лысенко // Биологический вестник. – 1998. – Т. 2. - № 2. – С. 3 – 7.



331. Сурина-Марышева, Е. Ф. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов при иммобилизационном стрессе / Е.Ф. Сурина-Марышева // Вестник ЮУрГУ. Серия Образование, здравоохранение, физическая культура. – 2008. - Вып. 14. - № 4 (104). - С. 86 - 87.
332. Суханов, Г.А. Апоптоз / Г. А. Суханов, О. Е. Акбашева. – Томск. : Изд-во ТПУ, 2006. – 172с.
333. Тарусов, Б.Н. Физико-химические механизмы биологического действия ионизирующих излучений / Б.Н. Тарусов // Успехи соврем. Биологии. – 1957. – Т. 44. - Вып. 2. – С. 171 – 185.
334. Темуриянц, Н.А. Изменение инфранианной ритмики физиологических процессов при адаптации к действию различных факторов / Н.А. Темуриянц, А.В. Шехоткин, В.С. Мартынюк, О.Б. Московчук и др. // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 524 – 525.
335. Теплый, Д.Л. Особенности морфологической картины сыворотки крови мышей разных возрастных групп при экспериментальном стрессе / Д.Л. Теплый, Н.А. Аюпова // Естественные науки: Журнал фундаментальных и прикладных исследований. - 2005. - №.10. - С. 47 - 50.
336. Теплый, Д.Л. Влияние эмоционально-болевого стресса на перекисное окисление липидов и относительную массу репродуктивных и иммунокомпетентных органов у молодых и старых крыс / Д.Л. Теплый, М.В. Горден // Успехи геронтологии. – 2004. – Вып. 14. – С. 44 – 47.
337. Теплый, Д.Л. Нейрофизиологические эффекты витамина Е / Д.Л. Теплый. Астрахань: ДЕОН. – 2008. – 310с.
338. Теплый, Д.Л. Возрастные изменения свободнорадикальных процессов у самцов крыс при введении антиоксидантов и в условиях стресса / Д.Л. Теплый, А.Л. Ясенявская // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6. - № 3. – С. 128 – 132.

339. Теплый, Д.Л. Об участии свободных радикалов и антиоксидантов в молекулярно-клеточных механизмах старения / Д.Л. Теплый // Свободные радикалы, антиоксиданты и старение. – Астрахань. – 2011. – С. 5 – 10.
340. Теплый, Д.Л. Об участии антиоксидантов в регуляции нейронального апоптоза филогенетически разных отделов головного мозга при старении / Д.Л. Теплый // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 96 – 100.
341. Теплый, Д.Л. Клеточная гибель – виды, фазы, сигнальные пути. Современные методические подходы к исследованию торможения и стимуляции программированной клеточной гибели / Д.Л. Теплый, Е.Д. Бажанова. Изд-во: Издательский дом «Астраханский университет». – Астрахань. – 2019«а». – 103с.
342. Теплый, Д.Л. Динамика параметров СРО плазмы крови под влиянием пренатального стресса и его коррекции альфа-токоферолом / Д.Л. Теплый // Материалы Всероссийской Научно-практической конф. с международным участием «Актуальные исследования висцеральных систем в биологии и медицине». – Астрахань. – 2019«б». – С. 61-65.
343. Тиунов, Л.А. Основные механизмы метаболизма ксенобиотиков в организме человека и животных / Л.А. Тиунов // Итоги науки и техники. Токсикология. - М. - 1981. - Т. 12. - С. 5 - 64.
344. Тиунов, Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты / Л.А. Тиунов // Вестник РАМН. – 1995. - № 3. – С. 9 – 13.
345. Ткачук, М.Г., Шапот Е.В. Изменения органов иммунной системы и показателей перекисного окисления липидов в процессе адаптации к физическим нагрузкам / М.Г. Ткачук, Е.В. Шапот // Материалы X

- Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 532 - 533.
346. Ткачук, М.Г. Тимус в условиях физических нагрузок и воздействия иммуномодуляторов. / М.Г. Ткачук, М.С. Страдина // Морфология. – 2004. - № 4.- С. 122.
347. Тодоров, И.Н. Стресс, старение и их биохимическая коррекция / И.Н. Тодоров, Г.И. Тодоров. – М.: Наука. – 2003. – 479с.
348. Токсикометрия химических соединений и ее использование в гигиенических и экологических исследованиях // Токсикометрия химических веществ, загрязняющих среду / Под редакцией Каспарова А.Л. и Саноцкого И.В. - М.. - 1986. - С. 10 - 65.
349. Торбек, В.Э. Морфофункциональное состояние ретикулоэпителиальных клеток тимуса у потомства алкоголизированных крыс / В.Э. Торбек // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 91.
350. Торчинский, Ю.М. Сера в белках / Ю.М. Торчинский. М., Мир. - 1977. - 303с.
351. Тризно, Н.Н. Эколого-физиологические механизмы токсического отека легких при ингаляции сероводородсодержащего газа / Н.Н. Тризно // Дис. докт. мед. наук. – Астрахань. – 1996. – С. 68 – 69.
352. Тризно, Н.Н. Морфологические особенности биожидкостей организма при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа / Н.Н. Тризно, И.А. Беднов, А.А. Резаев // Вестник новых медицинских технологий. – 2003. № 1/2. – С. 23 – 24.
353. Тризно, Н.Н. Некоторые пути коррекции нарушенного функционального состояния в условиях действия экстремальных факторов внешней среды / Н.Н. Тризно, А.Д. Стемповский // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 536 - 537.

354. Тривно, Н.Н. Серосодержащие газы, их действие на организм и пути детоксикации в эксперименте / Н.Н. Тривно, Ф.Р. Асфандияров, И.А. Беднов и др. Астрахань. - 2005. - 115с.
355. Тривно, Н.Н. Динамика вазомоторной дисфункции эндотелия при хроническом воздействии сероводородсодержащего газа / Н.Н. Тривно, Т.А. Шишкина, М.Н. Тривно // Астраханский медицинский журнал. – 2007. – Т. 2. - № 4. – С. 30 – 37.
356. Трубачева, О.А. Влияние перекиси водорода на регуляцию  $Ca^{2+}$ -зависимой  $K^{+}$ -проницаемости эритроцитов, опосредованную адренергическими рецепторами / О.А. Трубачева // Современные проблемы науки и образования. – 2012. - № 4. – С. 1 – 8.
357. Трубников, Г.А. Характеристика пневмоний и их генез при остром отравлении природным газом с высоким содержанием сероводорода / Г.А. Трубников, В.Э. Вальтер, Н.Н. Тривно и др. // Пульмонология, прилож. - 1994. - № 1150.
358. Тухтаев, Н.К. Постнатальное развитие органов иммунной системы потомства, полученного в условиях хронического воздействия пестицидов на организм матери / Н.К. Тухтаев, К.К. Расулов, О.О. Яриева // Морфология. – 2010. – Т. 137. - № 4. – С. 195 – 196.
359. Умбетов, Т.Ж. Структурная организация паренхимы трахеобронхиальных лимфатических узлов крыс при содержании их в условиях производства / Т.Ж. Умбетов, Н.Н. Шевлюк, Р.Е. Егембердиева, С.Б. Махамбетова // Научно-теоретический журнал «Морфология». – 2018. – Т. 153. - № 3. – С. 282.
360. Фатеева, Н.М. Биоритмологические особенности гемостаза перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы человека в условиях средних широт / Н.М. Фатеева // Материалы X Международного симпозиума «Эколого-физиологические проблемы адаптации». – М.: Изд-во РУДН, 2001. – С. 550 - 551.

361. Федорова, Е.С. Возрастная динамика факторов микроокружения в тимусе человека / Е.С.Фёдорова. - Автореф. дисс. к.б.н. - СПб. - 2009. - 25с.
362. Фельдман, Б.В. Околочасовые ритмы белкового метаболизма в гепатоцитах при различных экзогенных воздействиях / Б.В. Фельдман, И.С. Рожкова // Астраханский медицинский журнал. – 2011. – Т. 6. - № 3. – С. 277 – 279.
363. Фельдман, Б.В. Околочасовые клеточные ритмы при различных функциональных состояниях организма и токсическом воздействии / Б.В. Фельдман, Р.И. Асфандияров, И.С. Рожкова. – Астрахань. Изд-во: АГМА. – 2008. – 139с.
364. Флеров, М.А. Перекисное окисление липидов в гиппокампе, стриатуме и гипоталамусе при стрессе / М.А. Флеров, И.А. Герасимова // V Всеросс. конф. «Нейроэндокринология-2000» 18-20 апреля 2000 года. – СПб, 2000. – С. 130 – 131.
365. Франциянц, Е.М. Перекисное окисление липидов в патогенезе опухолевой болезни / Е.М. Франциянц, Ю.С. Сидоренко, Л.Я. Розенко // Росто-на-Дону: РГУ. – 1995. – 176с.
366. Хавинсон, В.Х. Пептидные биорегуляторы ингибируют апоптоз / В.Х. Хавинсон, И.М. Кветной // Бюлл. Эксперим. Биол. и мед. – 2000. – Т. 130. - № 12. – С. 657 - 658.
367. Хавинсон, В.Х. Свободнорадикальное окисление и старение / В.Х. Хавинсон, В.А. Баринов, А.В. Арутюнян. – СПб. : Наука, 2003. – 327с.
368. Хавинсон, В.Х. Пептидные биорегуляторы и старение / В.Х. Хавинсон, В.Н. Анисимов. – СПб. : Наука, 2003. – 223с.
369. Хавинсон, В.Х. Пептидергическая регуляция гомеостаза / В.Х. Хавинсон, И.М. Кветной, В.В. Южаков, В.В. Попучиев, С.С. Коновалов. – СПб. : Наука, 2003. – 194с.
370. Хавинсон, В.Х. Избранные лекции по геронтологии / В.Х. Хавинсон, С.С. Коновалов. – СПб. : Прайм-Еврознание, 2009. – 896с.

371. Хаитов, Р.М. Физиология иммунной системы. / Р.М. Хаитов // М., ВИНТИ РАН. - 2001. - 224с.
372. Харазова, А.Л. Определение скорости синтеза белка в тканях мидий при пониженной солености среды / А.Л. Харазова, В.Н. Фатеева, Н.В. Нечаева // Цитология. – 1981. - Т.12. - № 6. – С. 180 - 182.
373. Харазова, А.Д. Цитологические основы адаптации морских моллюсков к изменениям солености: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А.Д. Харазова. - СПбГУ. – 1999. – 36с.
374. Харченко, В.П. Болезни вилочковой железы / В.П. Харченко, Д.С. Саркисов. – М. : Триада X, 1998. – 232с.
375. Хужахметова, Л.К. Морфогенез эпифиза крыс в норме и при воздействии продуктами АГКМ на разных стадиях беременности / Л.К. Хужахметова, Л.Г. Сентюрова. – Астрахань: АГМА. - 2004. - 107с.
376. Хужахметова, Л.К. Коррекция свободнорадикальных процессов у стрессированных молодых крыс при введении  $\alpha$ -токоферола ацетата с циклофероном / Л.К. Хужахметова, Л.Г. Сентюрова, Д.Л. Теплый // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 109 – 111.
377. Хужахметова, Л.К. Фармакологическая коррекция изменений уровня апоптоза нейронов супрахиазматического ядра гипоталамуса и пинеалоцитов у крыс при старении и стрессе / Л.К. Хужахметова, Д.Л. Теплый, Е.Д. Бажанова // Успехи геронтологии. – 2019. – Т.32. - №6. – С. 915 – 922.
378. Чайлахян, Л.М. Высокопроницаемые контактные мембраны / Л.М. Чайлахян. – М. : Наука. – 1981. - 464с.
379. Чернов, Ю.Н. Патологические изменения клеточных мембран при ишемической болезни сердца и возможные пути фармакологической коррекции / Ю.Н. Чернов, М.В. Васин, Г.А. Батищева //

- Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1992. – Т. 57. - № 4. – С. 67 – 72.
380. Чернышева, Е.Н. Роль свободнорадикальных процессов в развитии преждевременного старения у пациентов с метаболическим синдромом /Е.Н. Чернышева, Т.Н. Панова, О.Н. Дьякова // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 114 – 117.
381. Чернышева, М.П. Пространственно-временная структура гормональной системы / В кн. «Основы нейроэндокринологии» под редакцией В.Г. Шаляпина, П.Д. Шабанова. – СПб. : Изд-во ЭлсбиСПб. – 2005. – С. 125 - 163.
382. Чернышева, М.П. Роль пептидных гормонов в формировании свойств пространства и времени внутренней среды организма / М.П. Чернышева. дисс....докт. биол. наук., СПб. – 2007. – 380с.
383. Чернышева, М.П. О филогенезе антиоксидантных систем / М.П. Чернышева // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 113 – 114.
384. Черток, О. М. Гистопатология центральной нервной системы собак при острой и подострой интоксикации сероводородом (экспериментально-морфологические исследования) / О.М. Черток // Некоторые вопросы гигиены и проф. патологии в Сибири. – М. – 1974. - С. 129 - 134.
385. Чеснокова, Л.Д. Влияние органических и неорганических экотоксикантов на некоторые показатели иммунной системы крыс / Л.Д. Чеснокова, И.В. Михайлова, Д.С. Карманова // Известие

- Оренбургского государственного аграрного университета. - 2015. - № 6 (56). - С. 252 – 254.
386. Чуйков Ю.С. О выполнении требований природоохранного законодательства на предприятии “Астраханьгазпром” / Ю.С. Чуйков // Тез. докл. науч. практ. конф. “Проблемы охраны здоровья и социальные аспекты освоения газовых месторождений России”. - Астрахань. - 1993. - С. 23 - 24.
387. Чуйков, Ю. С. Экологические проблемы Северного Прикаспия и Каспия / Ю.С. Чуйков // Материалы международной конференции по проблемам Каспия. Астрахань: Каспиец, 1999. - С. 30 - 60.
388. Шанин, Ю.Н. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения) / Ю.Н. Шанин, В.Ю. Шанин, Е.В. Зиновьев. - СПб. : ЭЛБИ - СПб, - 2003. - 128с.
389. Шарова, Н.И. Линия дендритных клеток из тимуса человека. Особенности экспрессии маркеров субпопуляций дендритных клеток и секреции цитокинов. / Н.И. Шарова, М.М. Литвина, А.Н. Митин, О.А. Ганковская, А.А. Ярилин // Иммунология. - 2011. - № 6. - С. 296 - 300.
390. Шатаева, Л.К. Пептидная саморегуляция живых систем (факты и гипотезы) / Л.К. Шатаева, В.Х. Хавинсон. – СПб. : Наука, 2003. – 222с.
391. Шишкина, Т.А. Сосудистая реакция стенки тонкой кишки на действие антропогенных факторов / Т.А. Шишкина, Л.И. Наумова, И.С. Давлатова // Научно-теоретический журнал «Морфология». – 2018. – Т. 153. - № 3. – С. 323.
392. Шишкина, Т.А. Патогенетические механизмы нарушения микроциркуляции в легких при хроническом воздействии сероводородсодержащим газом: экспериментальное исследование / Т.А. Шишкина. - Дисс. ... канд. мед. наук. - Саратов. – 2008. - 163с.
393. Шишло, М.А. О значении митохондрий в реакциях организма на действие сероводорода / М.А. Шишло // Науч. тр. Центр. НИИ курортологии и физиотерапии. - 1975. - Т. 29. - С. 25 - 28.



394. Шурлыгина, А.В. Хронозависимое действие интерлейкина-2 на клетки селезенки мышей в модели циклофосфановой иммуносупрессии / А.В. Шурлыгина, Е.В. мельникова, В.А. Труфакин // Бюлл. Эксперим. Биол. и мед. – 2014. – Т. 158. - № 10. – С. 472 - 475.
395. Эсаулова, Т.А. Особенности формирования экологически обусловленной патологии у работников крупного газоперерабатывающего производства. Профилактика. Реабилитация / Т.А. Эсаулова. : Автореф. дис. д-ра мед. наук, Астрахань. – 2009. – 40с.
396. Юрчинский, В.Я. Сравнительный анализ тимуса позвоночных животных / В.Я., Юрчинский, В.А. Забродин // Морфология. - 2008. - Т. 133. - № 2. - С. 161.
397. Юрчинский, В.Я. Оценка сложности структурной организации тимуса позвоночных животных и человека // В.Я. Юрчинский, В.А. Забродин // Морфология. - 2009. - № 4. – С. 159.
398. Юрчинский, В.Я. Возрастные изменения корково-мозгового индекса тимуса позвоночных животных и человека / В.Я. Юрчинский, В.А. Забродин // Журнал теоретической и практической медицины. Воронеж: ВГМА. - 2011. - С. 131 - 132.
399. Юровицкий, Ю.Г. Возможная связь адениловых нуклеотидов с ритмом синтеза белка в гепатоцитах *in vitro* / Ю.Г. Юровицкий, Н.В. Нечаева, Т.Е. Новикова, В.И. Фатеева // Известия АН. Серия биологическая. – 1990. - № 2. – С. 165 - 171.
400. Юшков, Б.Г. Система крови и экстремальные воздействия на организм / Б.Г. Юшков, В.Г. Климин, М.В. Северин. – Екатеринбург : УрО РАН, 1999. – 199с.
401. Яппаров, Р.Н. Критериальная значимость свободно-радикального окисления для оценки опасности производственных загрязнений / Р.Н. Яппаров // Астраханский медицинский журнал. – 2008. - Т. 3. - № 3. – С. 294 – 297.

402. Ярилин, А.А. Морфофункциональная характеристика структур тимуса при экспериментальной тастэктомии. // Автореф. к.м.н. – Саранск. – 2009. – 19с.
403. Ярилин, А.А. Возрастные изменения тимуса и Т-лимфоцитов / А.А. Ярилин // Иммунология. - 2003. - Т.24. - № 2. - С. 117 - 128.
404. Ярилин, А.А. Иммунология / А.А. Ярилин // ГЕОТАР-Медиа. - 2010. – 747с.
405. Ярилин, А.А. Т-клетки – недавние эмигранты из тимуса. / А.А. Ярилин, А.Д. Донецкова // Иммунология. – 2012. - № 6. – С. 326 - 334.
406. Ярошинская, А.П. Функционально-морфологическое состояние плазмы крови и эритроцитов человека в юношеском, взрослом и зрелом возрастах в норме и в условиях воздействия серосодержащих поллютантов : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / А.П. Ярошинская. – Астрахань, 2011. – 34с.
407. Ярошинская, А.П. Влияние серосодержащего газа на дренажную функцию системы микроциркуляции / А.П. Ярошинская, А.Е. Лазько, С. Зиндан // Морфология. - 2016. - Т. 149, - вып. 3. - С. 249.
408. Ясенявская, А.Л. Оценка перекисного окисления липидов в органах иммунной системы в условиях информационного стресса / А.Л. Ясенявская, М.У. Сергалиева, М.В. Мажитова и др. // Материалы III Всероссийской научной конференции с международным участием «Свободные радикалы, антиоксиданты и старение». – Астрахань: Изд-во Издательский дом «Астраханский университет». – 2016. – С. 121 – 122.
409. Abe, R. Peripheral blood fibrocytes: differentiation pathway and migration to wound sites / R. Abe, S.C. Donnelly, T. Peng, R. Bucala, C.N. Metz // J. Immunol. - 2001. - № 166. –P. 7556 - 7562.
410. Abzhalilova, A.R. Effects of hydrogen sulfide production on menstrual function / A.R. Abzhalilova. L.M. Ahushkova, O.Y. Voronina, T.M. Volobaeva // European Journal of Natural History. – 2013. - № 4. – P. 14.

411. Adachi, H. Effects of tocotrienols on life span and protein carbonylation in *Caenorhabditis elegans* / H. Adachi, N. Ishii // *J. Gerontol. Biol. Sci. Med. Sci.* – 2000. – Vol. 55. - № 6. – P. 280 - 285.
412. Adachi, T. Heparin-stimulated expression of extracellular superoxide dismutase human fibroblasts / T. Adachi, H. Hara, H. Yamada et al. // *Atherosclerosis.* – 2001. – Vol. 159 (2) – P. 307 – 312.
413. Adelson, L. Fatal hydrogen sulfide intoxication report of three cases occurring in a sewer / L. Adelson, L. Sunshine // *Arch. Pathol.* - 1966. - Vol. 81. - № 5. - P. 375 - 380.
414. Ahlborg, G. Hydrogen sulfide poisoning in shale oil industry / G. Ahlborg // *Am. Med. Assoc. ind. Hyg. Occup. Med.* – 1951. - № 3. – P. 247 – 266.
415. Alexandropoulos, K. Thymic epithelial cells: antigen presenting cells regulate T cell repertoire and tolerance development. / K. Alexandropoulos, N.M. Danzl // *Immunol Res.* - 2012. - Vol. 54. - P. 177 - 190.
416. Ambrose, K.J. Possible mechanisms of the transfer of information between small group of cocks / K.J. Ambrose // *Cell Differentiation.* – 1967. - P. 101 - 110.
417. Anderson, G. Mechanisms of thymus medulla development and function / G. Anderson, S. Baik, J.E. Cowan, A.M. Holland, N.I. McCarthy, K. Nakamura et al. // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* - 2014. – Vol. 373. – P. 19 - 47.
418. Anisimov, V.N. Peptide bioregulation of aging: results and prospects / V.N. Anisimov, V. Kh. Khavinson // *Biogerontology.* - 2010. - Vol. 11. - P. 139 – 149.
419. Antonyuk, S.V. The structure of human extracellular copper-zinc superoxide dismutase at 1.7 Å resolution: insights into heparin and collagen binding / S.V. Antonyuk, R.W. Strange, S.L. Marklund et al. // *J. Mol. Biol.* – 2009. – Vol. 388. - № 2. – P. 310 – 326.

420. Arivazhagan, P. Effect of DL-alpha-lipoic acid on mitochondrial enzymes in aged rats / P. Arivazhagan, K. Ramanathan, C. Panneerselvam // *Chem. Biol. Interact.* – 2001. – Vol. 36. - № 2. – P. 189 - 198.
421. Arnold, L.M. Health implication of occupational exposures to hydrogen sulfide / L.M. Arnold, R.M. Dufresne, B.C. Alleyne // *J. Occup. Med.* – 1985. – Vol. 27. - № 5. – P. 373 - 376.
422. Arockia-Rani, P.J. Carnitine as a free radical scavenger in aging / P.J. Arockia-Rani, C. Panneerselvam // *Exp. Gerontol.* – 2001. – Vol. 36. - № 10. – P. 1713-1726.
423. Aruoma, O.I. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease / O.I. Aruoma // *JAOCS.* – 1998. - Vol. 75. - № 2. – P. 199 – 212.
424. Alcaraz, M. Liposoluble antioxidants provide an effective radioprotective barrier / M. Alcaraz, C. Acevedo, J. Castillo // *Br. J. Radiol.* – 2009. – Vol. 82 (979). – P. 605 – 609.
425. Akerboom, T. Cellular hyperoxide metabolism: the roles of glutathione peroxidase and of catalase in liver / T. Akerboom, M. Gather, H. Sies // *Bull. Eur. Physiopathol. Res.* - 1981. - Vol. 17, Suppl. - P. 221 - 227.
426. Asif, M.J. Utilization of hyperbaric oxygen therapy and induced hypothermia after hydrogen sulfide exposure / M.J. Asif, M.C. Exline // *Respir. Care.* - 2012. - Vol. 57. - № 2. - P. 307–310.
427. Audean, F.M. Hydrogen sulfide poisoning: associated with pelt processing / F.M. Audean, C. Gnanaharan, R. Davey // *Med.* - 1985. - Vol. 98 (774). – P. 145 - 147.
428. Aust, S.D. The role of iron in enzymatic lipid peroxidation / S.D. Aust, B.A. Svingen // *Free Radicals in Biology.* – 1982. – Vol. 5. - P. 1 – 28.
429. Babior, B.M. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent / B.M. Babior, R.S. Kipnes, J.T. Carnutte // *J. Clin. Invest.* – 1973. – Vol. 52. – P. 741 – 744.

430. Baldelli, R.J. Sulfide toxicity: mechanical ventilation and hypotension determine survival rate and brain necrosis / R.J. Baldelli, F.H. Green, R.N. Auer // *J. Appl. Physiol.* - 1993. - Vol. 75. - № 3. - P. 1348 - 1353.
431. Baron, R.L. Computed tomography of the normal thymus / R.L. Baron, J.K.T. Lee, S.S. Sagel, R.R. Peterson // *Radiology.* - 1982. - № 142. - P. 121 - 125.
432. Barcelos, I.P. CoQ<sub>10</sub> and aging / I.P. Barcelos, R.H. Haas // *Biology (Basel).* - 2019. - Vol. 8. - № 2. - P. E28.
433. Barclay, J.L. Interaction of central and peripheral clocks in physiological regulation / J.L. Barclay // *Prog. Brain Res.* - 2012. - P. 163 - 181.
434. Bast, A. Oxidative stress and antioxidants in interstitial lung disease / A. Bast, A.R. Weseler, G.R. Haenen, G.J. den Hartog // *Curr. Opin. Pulm. Med.* - 2010. - Vol. 16 (5). - P. 516 - 520.
435. Bast, A. Oxidants and antioxidants: State of the art / A. Bast, G.R.M.M. Haenen, C.J.A. Doelman // *Amer. J. Med.* - 1991. - Vol. 91. - № 30. - P. 25 - 135.
436. Bayir, H. Neuronal NOS-mediated nitration and inactivation of manganese superoxide dismutase in brain after experimental and human brain injury / H. Bayir, V.E. Kagan, R.S. Clark et al. // *J. Neurochem.* - 2007. - Vol. 101 (1). - P. 168 - 181.
437. Bennet, M.V. Cap junctions and development / M.V. Bennet, D.C. Spray, A.L. Harris // *Trends Neurosc.* - 1981. - Vol.4. - P. 159 - 163.
438. Berry, E.M. The effects of nutrients on lipoprotein susceptibility to oxidation / E.M. Berry // *Current Opinion in Lipidology.* - 1992. - Vol. 3. - № 1. - P. 5 - 11.
439. Beyfuss, K. A systematic review of p53 regulation of oxidative stress in skeletal muscle / K. Beyfuss, D.A. Hood // *Redox Rep.* - 2018. - Vol. 23. - №1. - P. 100 - 117.

440. Bodey, B. Thymic reticulo-epithelial cells: key cells of neuroendocrine regulation / B. Bodey // *Expert. Opin. Biol. Th.* - 2007. - Vol. 7 (7). - P. 477 – 484.
441. Borges-Alvarez, M. Cappillary electrophoresis/mass spectrometry for the separation and characterization of bovine Cu, Zn-superoxide dismutase / M. Borges-Alvarez, F. Benavente, J. Barbosa et al. // *Rapid Commun. Mass. Spectrom.* – 2010. – 30. 24 (10). – P. 1411 – 1418.
442. Brahmajothi, M.V. Heterogeneous expression of NO-activated soluble guanylyl cyclase in mammalian heart: implications for NO- and redox-mediated indirect versus direct regulation of cardiac ion channel function / M.V. Brahmajothi, D.L. Cambell // *Channels (Austin)*. – 2007. – Vol. 1 (5). – P. 353 – 365.
443. Bray, M.S., Young M.E. Regulation of fatty acid metabolism by cell-autonomous circadian clocks: Time to fatten up on information?/ M.S. Bray, M.E. Young // *J. Biol. Chem.* – 2011. - Vol.1. - P. 286 - 291.
444. Brodsky, V.Y. Self organized intracellular ultradian rhythms provide direct cell communication. In: *Ultradian rhythms from molecules to mind* / V.Y. Brodsky, D. Lloyd // Springer. - 2008. - P. 85 – 104.
445. Brodsky, V.Y. Ganglioside-mediated metabolic synchronization of protein synthesis activity in cultured hepatocytes / V.Y. Brodsky, N.V. Nechaeva, N.D. Zvezdina et al. // *Cell Biology International*. – 2000. - № 24. – P. 211 - 222.
446. Brodsky, V.Y. Loss of hepatocyte co-operative activity after inhibition of ganglioside GM1 synthesis and shedding / V.Y. Brodsky, N.V. Nechaeva, N.D. Zvezdina et al. // *Cell Biology International*. – 2003. - № 27. – P. 935 - 942.
447. Brodsky, V.Y. Small cooperative activity of old rat hepatocytes may depend on composition of the intercellular medium / V.Y. Brodsky, N.V. Nechaeva, N.D. Zvezdina et al. // *Cell Biology International*. – 2004. - № 28. – P. 311 - 316.

448. Brodsky, V.Y. Single short-term signal that enhances cooperative activity of old rat hepatocytes acts for several days / V.Y. Brodsky, N.D. Zvezdina, N.V. Nechaeva et al. // *Cell Biology International*. – 2005. - № 29. – P. 971 - 975.
449. Brodsky, V.Y. Direct cell–cell communication. A new approach derived from recent data on the nature and self organization of ultradian (circahoralian) intracellular rhythms / V.Y. Brodsky // *Biological Reviews of Cambridge Philosophical Soc.* - 2006. - V. 82. - P. 143 – 162.
450. Brooks, P.S. A shortcut to mitochondrial signaling and pathologic: A commentary on “Nonenzymatic formation of succinate in mitochondria under oxidative stress” / P.S. Brooks, R.S. Freeman, M.C. Barone // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2006. – Vol. 41. - P. 41 – 45.
451. Brown, K.E. Some toxicological problems in rubber industry / K.E. Brown // *Med. J. Austr.* - 1969. - № 1. - P. 534 - 538.
452. Burdon, R.H. Released active oxygen species as intercellular signals: their role in regulation of normal and tumor cell proliferation / R.H. Burdon // *Biol. Chem. / Hoppe-Seyler*. – 1992. – Vol. 373. – P. 739 – 740.
453. Bukart, V. Suppression of nitric toxicity in islet cells by  $\alpha$ -tocopherol / V. Bukart, A. Grob-Eick, K. Bellman et al. // *FFBS Lett.* – 1995. – Vol. 364. – P. 259 – 263.
454. Burnett, W. Hydrogen sulfide poisoning: review of 5 years experience / W. Burnett, E. King, M. Grace, W. Hall // *Can. Med. Assoc. J.* - 1977. - Vol. 117 (11). - P. 1277 - 1280.
455. Cadenas, E. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging / E. Cadenas, K.J. Davies // *Free Radical Biology and Medicine*. – 2000. – Vol. 29. - P. 222 – 230.
456. Cadet, J. Oxidative damage to DNA: formation, measurement and biochemical features / J. Cadet, T. Douki, D. Gasparutto // *Mutat. Res.* – 2003. – Vol. 531 (1-2). P. 5 – 23.

457. Calamita, P. Translating the Game: Ribosomes as Active Players / P. Calamita, G. Gatti, A. Miluzio et al. // *Front. Genet.* - 2018. - Vol. 9. - P. 533. doi.org/10.3389/fgene.2018.00533
458. Caputi, S. Effect of short peptides on neuronal differentiation of stem cells / S. Caputi, O. Trubiani, B. Sinjari et al. // *Int. J. Immunopathol. Farmacol.* - 2019. - Vol. 33. - P. 1–12.
459. Caraceni, P. Proteins but not nucleic acids are molecular targets for the free radical attack during reoxygenation of rat hepatocytes / P. Caraceni, N. De Maria, H.S. Ryu, A. Colantoni, L. Roberts, M.L. Maitt, Q. Pye, M. Bernardi, D.H. Van Thiel, R.A. Floyd // *Free Radic. Biol. Med.* – 1997. – Vol. 2. - № 23. – P. 339 – 344.
460. Castro, C.Y. Cytology and surgical pathology of the mediastinum / C.Y. Castro, D.C. Chhieng // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2005. – Vol. 563. – P. 42 - 54.
461. Chen, R. Green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate (EGCG) induced intermolecular cross-linking of membrane proteins / R. Chen, J.B. Wang, X.Q. Zhang et al. // *Arch. Biochem. Biophys.* – 2011. – Vol. 507 (2). – P. 343 – 349.
462. Chen, P. Established thymic epithelial progenitor/stem cell-like cell lines differentiate into mature thymic epithelial cells and support T- cell development. / P. Chen, J. Zhang, Y. Zhan, J. Su, Y. Du, G. Xu, Y. Shi et al. // *PLoS One.* - 2013. - Vol. 23. - № 8 (9):e75222.
463. Cheung, K. Luminol-dependent chemilluminescence produced by neutrophils stimulated by immune complexes / K. Cheung, A. Archibald, F. Robinson // *Austr. J. Exp. Biol. and Med. Sci.* – 1984. – Vol. 62, Pt. 4. – P. 403 – 419.
464. Comporti, M. Lipid peroxidation and cellular damage in toxic liver injury / M. Comporti // *Lab. Invest.* – 1985. – Vol. 53. – P. 599 – 623.



465. Conrad, M. Physiological role of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase in mammals / M. Conrad, M. Schneider, A. Seiler et al. // *Biol. Chem.* – 2007. – Vol. 388 (10). – P. 1019 – 1025.
466. Cortina-Puig, M. Determination of the antioxidants ability to scavenge free radicals biosensors / M. Cortina-Puig, B. Prieto-Simon, M. Campas et al. // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2011. – Vol. 698. - P. 222 – 233.
467. Cox, G. Glucocorticoid treatment inhibits apoptosis in human neutrophils. Separation of survival and activation outcomes / G. Cox // *J. Immunol.* – 1995. – Vol. 154. - № 9. – P. 4719 - 4725.
468. Cross, A.R. Enzymic mechanisms of superoxide production / A.R. Cross, O.T.G. Jones // *Biochem. et biophys. Acta.* – 1991. – Vol. 3. – P. 27 – 32.
469. Csaba, G. The immunoendocrine thymus as a pacemaker of lifespan / G. Csaba // *Acta Microbiologica et Immunologica.* – 2016. - Vol. 63. - № 2. – P. 139 – 158.
470. Czesnikiewicz-Guzik, M. Circulating rhythms in human salivary melatonin and its role in oxidative stress related diseases of the oral cavity /M. Czesnikiewicz-Guzik // *J. Physiol. Pharmacol.* – 2007. - Vol. 58. – Suppl. 3. - P. 5 - 19.
471. Demaret, D. Intoxication by hydrogen sulfide in a natural gas refinery / D. Demaret, J. Fialaire // *Eur. J. Toxicol. Environ. Hyg.* – 1974. – Vol. 7. - № 1. – P. 32 – 36.
472. Dix, T.A. Mechanisms and biological significance of lipid peroxidation initiation / T.A. Dix, J. Aikens // *Chem. Res. Toxicol.* - 2005. - Vol. 6. - P. 2 - 18.
473. Donehower, L.A. Does p53 affect organismal aging? / L.A. Donehower // *J. Cell Physiol.* – 2002. – № 1. - P. 23 – 33.
474. Duffy, P. Studies on the control of LGH activity in mammalian cells. Demonstrations of rapid continuous variations of LGH activity in cultured cells /P. Duffy // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1971. - Vol. 244. - P. 606 - 612.

475. Eaton, J.W. Catalases and peroxidases and glutathione and hydrogen peroxide: mysteries of the bestiary / J.W. Eaton // *J. Lab. Clin. Med.* – 1991, - Vol. 118. - № 1. – P. 3 – 4.
476. Ebert, T. Chaos and physiology: deterministic chaos in excitable cell assemblies / T. Ebert, W.J. Ray, Z.J. Kovalik et al. // *Physiol. Rev.* – 1993. – Vol. 74. - № 1. – P. 1 - 47.
477. Edmunds, L.M.Jr. Clocked cell cycle clocks / L.M.Jr. Edmunds, K.J. Adams // *Science.* – 1981. - Vol. 211. - № 4486. - P. 1002 - 1013.
478. Elovaara, E. Effect of subclinical hydrogen sulfide intoxication on mouse brain protein metabolism / E. Elovaara, A. Tossavainen, H. Savolainen // *Exp. Neurol.* - 1978. – Vol. 62. - № 1. – P. 93 – 98.
479. Evans, C.L. The toxicity of hydrogen sulfide and other sulphides / C.L. Evans // *Quart. J. Exp. Physiol.* – 1967. – Vol. 52. - № 3. – P. 231 – 248.
480. Faulkner, M.J. Peroxide stress elicits adaptive changes in bacterial metal ion homeostasis / M.J. Faulkner, J.D. Helmann // *Antioxid Redox Signal.* – 2011. – Vol. 15 (1). – P. 175 – 189.
481. Fidelius, R.K. The generation of oxygen radicals: A positive signal for lymphocyte activation / R.K. Fidelius // *Cell. Immunol.* – 1988. – Vol. 113. – P. 175 – 182.
482. Finkel, I. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing / I. Finkel, N.J. Holbrook // *Nature.* – 2000. – Vol. 408 (6809). – P. 239 – 247.
483. Fleming, A.L. Chemical health hazards / A.L. Fleming // *Modern occupational Med.* - Philadelphia. - 1954. - P. 333.
484. Forster, M.J. Age-related losses of cognitive function and motor skills in mice are associated with oxidative protein damage in the brain / M.J. Forster, A. Dubey, K.M. Dawson, W.A. Stutts, H. Lal, R.S. Sohal // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – Vol. 93 (10). – P. 4765 - 4769.
485. Förstermann, U. Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease / U. Förstermann // *Pflügers Arch.* – 2010. – Vol. 459 (6). – P. 923 – 939.

486. Fransen, M. Peroxisomes and cellular oxidant/antioxidant balance: Protein redox modifications and impact on inter-organelle communication / M. Fransen, C. Lismont // *Subcell. Biochem.* - 2018. - Vol. 89. - P. 435 – 461.
487. Fridovich, I. Superoxide dismutase: anti- versus pro-oxidants? / I. Fridovich // *Anticancer Agents Med. Chem.* – 2011. – Vol. 11 (2). – P. 157 – 175.
488. Friguet, B. Protein degradation by the proteasome and its implications in aging / B. Friguet, A.L. Bulteau, N. Chondrogianni, M. Conconi, I. Petropoulos // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* – 2000. – Vol. 908. – P. 143 - 154.
489. Fromenty, B. Microvesicular steatosis and steatohepatitis: role of mitochondrial dysfunction and lipid peroxidation / B. Fromenty, A. Berson, D. Pessayre // *J. Hepatology.* – 1997. – Vol. 26 (suppl. 1). – P. 13 – 22.
490. Fukai, I. Distribution of thymic tissue in the mediastinal adipose tissue / I. Fukai, Y. Funato, T. Mizuno, T. Hashimoto, A. Masaoka // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* – 1991. – Vol. 101. - № 6. - P. 1099 - 1102.
491. Fukami, K. Hydrogen sulfide and T-type  $\text{Ca}^{2+}$  channels in pain processing, neuronal differentiation and neuroendocrine secretion / K. Fukami, F. Sekiguchi, A. Kawabata // *Pharmacology.* - 2017. - Vol. 99. - № 3-4. - P. 196 – 203.
492. Gagnaire, F. The influence of simultaneous sulfide on the peripheral nerve toxicity and metabolism of carbon disulfide in rats / F. Gagnaire, P. Simon, P. Bonnet // *Toxicol. Lett.* – 1986. – Vol. 34 (2-3). – P. 175 – 183.
493. Gameiro, J. The thymus microenvironment in regulating thymocyte differentiation / J. Gameiro, P. Nagib, L. Verinaud // *Cell Adhesion.* - 2010. - Vol. 4. - P. 382 - 390.
494. Gentry, A. Complicating the role of 53 in aging / A. Gentry, S. Venkatachalam // *Aging Cell.* – 2005. – Vol. 4. – P. 28 – 35.
495. Gilbert, D.A. Differentiation, ontogenesis and cellular periods / D.A. Gilbert // *J. Theor. Biol.* – 1968. - Vol. 21. - № 1. - P. 119 - 122.

496. Giorgi, C. Mitochondria and reactive oxygen species in aging and age-related diseases / C. Giorgi, S. Marchi, I.C.M. Simoes et al. // *Int. Rev. Cell. molec. Biol.* - 2018. - Vol. 340. - P. 209 – 344.
497. Girotti, A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effectors action in biological systems / A.W. Girotti // *J. Lipid Res.* – 1998. – Vol. 39. – № 8. – P. 1529 – 1542.
498. Giulivi, C. Tyrosine oxidation products: analysis and biological relevance / C. Giulivi, N.J. Traaseth, K.J.A. Davies // *Amino Acids.* – 2003. – Vol. 25. – P 227 – 232.
499. Go, Y.M. Redox theory of aging: implications for health and disease / Y.M. Go, D.P. Jones // *Clin. Sci. (London).* – 2017. – Vol. 131. - №14. – P. 1669 – 1688.
500. Goshima, K. A study on the preservation of the beating rhythm of single myocardial cells in vitro / K. Goshima // *Exp. Cell. Res.* – 1973. - Vol. 80. - P. 432 - 438.
501. Gorsky, A.K. On the stoichiometry of the oxidase and monooxygenase reactions catalyzed by liver microsomal cytochrome P<sub>450</sub>. Products of oxygen reduction / A.K. Gorsky, D.J.L. Koop, M.J. Coon // *J. Biol. Chem.* – 1984. – Vol. 259. – P. 6812 – 6817.
502. Gosselin, R. Hydrogen sulfide. Clinical toxicology of Commercial products / R. Gosselin, H. Hodge, R. Smith // The Williams and Wilkins Co. – Baltimore. - 1976. – P. 169 – 173.
503. Groemping, Y. Activation and assembly of the NADPH oxidase: a structural perspective / Y. Groemping, K. Rittinger // *J. Biochem.* – 2004. – Vol. 38 (6). – P. 401 – 406.
504. Grune, R. Selective degradation of oxidatively modified protein substrates by the proteasome / R. Grune, K. Merker, G. Sandig, K.J.A. Davies // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2003. – Vol. 305. – P. 709 – 718.
505. Guidotti, T.L. Hydrogen Sulfide Intoxication / T.L. Guidotti // *Handb. Clin. Neurol.* - 2015. - Vol. 131. - P. 111 – 133.

506. Gutteridge, J.M.C. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage / J.M.C. Gutteridge // *Clinical Chemistry*. – 1995. - Vol. 41. - № 12. – P. 1819 – 1828.
507. Haggard H.W. The toxicology of hydrogen sulfide / H.W. Haggard // *J. Biol. Chem.* – 1925. – Vol. 7. – P. 113 – 121.
508. Haider, S.S. Neurochemical changes by inhalation of environmental pollutants sulfur dioxide and hydrogen sulfide / S.S. Haider, M. Hasan // *Industr. Hlth.* - 1984. - Vol. 22 (1). - P. 23 - 31.
509. Halliwell, B. Free radicals in biology and medicine / B. Halliwell, J.M.C. Gutteridge. – Oxford: University Press. – 1999. – 936p.
510. Hannah, R.S. Chronic exposure to low concentrations of sulfide produces abnormal growth in developing cerebellar Purkinje cells / R.S. Hannah, S.H. Roth // *Neurosci. Lett.* - 1991. - Vol. 122 (2). - P. 225 – 228.
511. Harrison, R. Structure and function of xanthine oxidoreductase: where are we now? / R. Harrison // *Free Radic. Biol. Med.* – 2002. – Vol. 33. – P. 774 – 797.
512. Harman, D. The aging process: major risk factor for disease and death / D. Harman // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1991. – Vol. 88. - № 12. - P. 5360 - 5363.
513. Harman, D. Free Radical Theory of Aging: An Update Increasing the Functional Life Span / D. Harman // *ANNALS of the N.Y. Academy of Sciences*. 10 May 2006. – P. 10 – 21.
514. Hazenberg, M. D. T-cell receptor excision circles as markers for recent thymic emigration: basic aspects, technical approach, and guidelines for interpretation / M. D. Hazenberg, M. C. M. Verschuren, D. Hamann et al. // *J. Mol. Med.* - 2001. -Vol. 79. - P. 631 - 640.
515. Heinecke, J.W. Tyrosyl radical production by myeloperoxidase: a phagocyte pathway for lipid peroxidation and dityrosine cross-linking of proteins / J.W. Heinecke // *Toxicology*. – 2002. – Vol. 177. – P. 11 - 22.

516. Hessel, P.A. Lung Health in relation to hydrogen sulfide exposure in oil and gas workers in Alberta, Canada / P.A. Hessel, F.A. Herbert, L.S. Melenka // *Am. J. Ind. Med.* - 1997. - Vol. 31 (5). - P. 554 - 557.
517. Ho, Y.S. Mice Lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury / Y.S. Ho, Y. Xiong, W. Ma et al. // *J. Biol. Chem.* - 2004. - Vol. 279. - P. 32804 - 32812.
518. Honma, K. Biological clock and sleep / K. Honma // *J. Brain Nerve.* - 2012. - Vol. 64 (6). - P. 639 - 646.
519. Ни, Q.Q. Effects of Boron on Structure and Antioxidative Activities of Spleen in Rats / Q.Q, Ни, Sh. Li., E.M Qiao. et al. // *Biological trace element research.* - 2014. - №158 (1). - P. 73 - 80.
520. Huang, W. Circadian rhythms, sleep, and metabolism / W. Huang // *J. Clin. Invest.* - 2011. - Vol. 121. - № 6. - P. 2133 - 2214.
521. Iida, S. Vascular effects of a common gene variant of extracellular superoxide dismutase in heart failure / S. Iida, Y. Chu, R.M. Weiss et al. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* - 2006. - Vol. 291 (2). - P. 914 - 920.
522. Izmerov, N.F. Toxicometric parameters of industrial toxic chemicals under single exposure / N.F.Izmerov, I.V. Sanotsky, K.K. Sidorov // *Centre of international projects.* - Moscow. - 1982. - 160p.
523. Inomata, K. Ultracytochemical studies of capillary endothelial cells in the rat central nervous system / K. Inomata, T. Yoshika, F. Nasu, H. Mayahava // *Acta. Anat. Basel.* - 1984. - Vol. 118. - № 4. - P. 243 - 248.
524. Jaakkola, J. The South Karelia Air Pollution study. The effects of malodorous sulfur compounds from pulp mills on respiratory and other symptoms / J. Jaakkola, V. Vilkkka, O. Marttila // *Am. Rev. Respir. Dis.* - 1990. - Vol. 142 (6 pt 1). - P. 1344- 1350.
525. Janossy, G. Cellular differentiation of lymphoid subpopulations and their microenviron. The Human thymus / G. Janossy, M. Bofill, L. Tredosiewicz, et al. // *Springer Verlag.* - 1986. - P. 89 - 127.

526. Jansen, E.H.J.M. Effect of iron chelates on luminal chemiluminescence in the presence of xanthine oxidase / E.H.J.M. Jansen, R.H. Van Den Berg, J.J. Bergman // *Anal. Chim. Acta.* – 1989. – Vol. 227. – P. 57 – 63.
527. Jeroudi, M.O. Effect of superoxide dismutase and catalase, given separately, on myocardial «stunning» / M.O. Jeroudi, F.J. Triana, S.K. Bharat, R. Bolli // *Fm. J. Physiol.* – 1990. – Vol. 74. – P. 714 – 727.
528. Jin, J. Role of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression in regulatory T cells on nasal polypogenesis / J. Jin, D.Y. Chang, S.H. Kim et al. // *Laryngoscope.* – 2014. – Vol. 124 (5). – P. 151–159.
529. Jomova, R. Advances in metal-induced oxidative stress and human disease / R. Jomova, M. Valko // *Toxicology.* – 2011. – Vol. 283 (2-3). – P. 65 – 87.
530. Jonson, F. Superoxide dismutase and their impact iron human health / F. Jonson, C. Giulivi // *Mol. Aspects Med.* – 2005. – Vol. 26. – P. 340 – 352.
531. Jones, D.P. Radical-free biology of oxidative stress / D.P. Jones // *Am. J. Physiol. Cell. Physiol.* – 2008. – Vol. 295. – P. 849 - 868.
532. Junod, A.F. Effects of oxygen intermediates on cellular functions / A.F. Junod // *Amer. Rev. Respir. Dis.* – 1987. – Vol. 135, Suppl. – P. 532 – 535.
533. Kangas, J. Exposure to hydrogen sulfide, mercaptans and sulfur dioxide in pulp industry / J. Kangas, P. Jappinen, H. Savolainen // *Amer. Ind. Hyd. Assoc. J.* - 1984. - Vol. 45. - № 12. - P. 787 - 790.
534. Kanvah, S. The sacrificial role of easily oxidizable sites in the protection of DNA from damage / S. Kanvah, G.B. Schuster // *Nucleic Acids Res.* – 2005. – Vol. 33 (16). – P. 5133 – 5138.
535. Karla, J. Effect of oxygen free radicals, hypoxia and pH on the release of liver lysosomal enzymes / J. Karla, A.K. Chaudhary, K.I. Massey, K. Prasad // *Mol. and Cell. Biochem.* – 1990. - Vol. 94. - P. 1 – 8.
536. Kasama, T. Production of interleukin 1-like factor from human peripheral blood monocytes and polymorphonuclear leucocytes by superoxide anion: The role of interleukin 1 and reactive oxygen species in inflamed sites / T.

- Kasama, K. Kobayashi, T. Fukushima et al. // Clin. Immunol. Immunopathol. – 1989. - Vol. 66. – P. 1321 – 1327.
537. Kilbum, K.H. Hydrogen sulfide and reduced-sulfur gases adversely affect neurophysiological functions / K.H. Kilbum, R.H. Warshaw // Toxicol. Ind. Health - 1995. - Vol. 11 (2). - P. 185 - 197.
538. Kimura, K. A fatal disaster case based on exposure to hydrogen sulfide-an estimation of the hydrogen sulfide concentration at the scene / K. Kimura, M. Hasegawa, K. Matsubara et al. // Forensic. Sci. Int. - 1994. - Vol. 66. - № 2. - P. 111-116.
539. Kirkman, H.N. Mechanisms of protection of catalase by NADPH. Kinetics and stoichiometry / H.N. Kirkman. M. Rolfo, A.M. Ferraris, G.F. Gaetani // J. Biol. Chem. – 1999. – Vol. 274. – P. 13908 – 13914.
540. Klents, R.D. Hydrogen Sulfide: Effects on avian respiratory control and intrapulmonary CO<sub>2</sub> receptors / R.D. Klents, M.R. Fedde // Rev. Physiol. - 1978. – Vol. 32. - № 3. - P. 355 - 367.
541. Klevecz, R. The periodic synthesis of lactate dehydrogenase in the cell cycle / R. Klevecz // J. Cell. Biol. – 1969. - № 43. - P. 207 - 219.
542. Klausen, H. Occupational poisoning with hydrogen sulfide (Dans) / H. Klausen, P. Gregersen, U. Danelsen // Ugeskr. Long. - 1979. - Vol. 141 (49). - P. 3393 - 3396.
543. Knorre, W.A. Oscillations in the epigenetic system: a biophysical model of the B-galactosidase control system / W.A. Knorre // Biological and Biochemical oscillators. - Acad. Press. - NY-L. – 1973. - P. 449 - 457.
544. Kobayashi, T. Ultrastructural localization of superoxide dismutase in human skin / T. Kobayashi, N. Saito, N. Takemori et al. // Acta Derm. Venerol. – 1993. – Vol. 73. - P. 41 – 45.
545. Kolchina, N. Systematic search for structural motifs of peptide binding to double-stranded DNA / N. Kolchina, V. Khavinson, N. Linkova et al. // Nucl. Acids Res. - 2019. - Vol. 47. - № 20. - P. 10553–10563.



546. Koltover, V. K. Free radical timer of aging: from chemistry of free radicals to systems theory of reliability // *Curr. Aging Sci.* - 2017. - Vol. 10. - № 1. - P. 12–17.
547. Kombian, S.B. Effect of acute intoxication with hydrogen sulfide on central amino acid transmitter systems / S.B. Kombain, M.V. Warenycia, F.G. Melle, R.J. Reiffenstein. // *Neurotoxicology.* – 1988. – Vol. 9. - № 4. – P. 587 - 595.
548. Kovij, A. High levels of xanthine oxidoreductase in rat endothelial, epithelial and connective tissue cells. A relation between localization and function / A. Kovij, K.S. Bosch, W.M. Frederiks, C.J.F. Van Noorden // *Virchow Archiv. Cell. Pathol.* – 1992. – Vol. 62. – P. 143 – 150.
549. Lennon, S.V. Dose-dependent induction of apoptosis in human tumor cell lines by widely diverging stimuli / S.V. Lennon, S.J. Martin, T.G. Cotter // *Cell. Prolif.* – 1991. – Vol. 24. – P. 203 – 214.
550. Lio, C.W. Becoming self-aware: the thymic education of regulatory T cells / C.W. Lio, C.S Hsieh // *Curr. Opin. Immunol.* - 2011. - Vol. 23. - № 2. - P. 213-219.
551. Liochev, S.I. Mechanism of the peroxidase activity of Cu, Zn superoxide dismutase / S.I. Liochev, I. Fridovich // *Free Radic. Bio. Med.* – 2010. – Vol. 48 (12). – P. 1565 – 1569.
552. Litinskaya, L.L. Erlich ascites carcinoma synchronised ultradian rhythms in certain cell parameters / L.L. Litinskaya, G.A. Kostenko, A.M. Veksler, L.Kh. Eidus. // *Intern. J. Chronobiol.* – 1978. – Vol. 5. – P. 295 - 306.
553. Liu, K.J. Synthesis of Cr(IV)-GSH, its identification and its free hydroxyl radical generation: a model compound for Cr(VI) carcinogenicity / K.J. Liu, X. Shi, N.S. Dalal // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 1997. – Vol. 235 (1). – P. 54 – 58.
554. Lloyd, D. Ultradian rhythms and clocks in plants and yeast / D. Lloyd // *Biol. Rhythms Res.* - 2006. - Vol. 37. - P. 281 – 297.

555. Lloyd, D. Ultradian metronome: timekeeper for orchestration of cellular coherence / D. Lloyd, D.B. Murray // Trends Biochem. Sci. - 2005. - Vol. 30. - P. 373 – 377.
556. Lock, R. Characteristics of the granulocyte chemiluminescence reaction following an interaction between human neutrophils and Salmonella typhimurium bacteria / R. Lock, C. Dahlgren // Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand. – 1988. – Vol. 96. – P. 299 – 306.
557. Loguercio, C. Oxidative stress in viral and alcoholic hepatitis / C. Loguercio, A. Federico // Free Radical Biology and Medicine. – 2003. – Vol. 34. - № 1. – P. 342.
558. Lomax, K.J. The molecular biology of selected phagocyte defects / K.J. Lomax, H.L. Malech, J.L. Gallin // Blood Revs. – 1989. – Vol. 3. – P. 94 – 105.
559. Lou, M.F. The role of protein – thiol disulfides in cataractogenesis / M.F. Lou, J.E. Dickerson, R. Garadi // Exp. Eye Res. – 1990. – Vol. 50 (6). – P. 819 – 826.
560. Lung, O.E. Pathological - anatomical findings in experimental hydrogen sulfide poisoning - a study on rhesus monkeys / O.E. Lung, H. Wieland // Int. Arch. Gewerbepathol. Bewerbehbyg. - 1966. – Vol. 22. - P. 46 - 52.
561. MacMillan-Crow, L.A. Does more Mn-SOD mean more hydrogen peroxide? / L.A. MacMillan-Crow, J.P. Crow // Anticancer Agents Med. Chem. – 2011. – Vol. 11 (2). – P. 178 – 180.
562. Manley, N.R. Thymus organogenesis and molecular mechanisms of thymic epithelial cell differentiation / N.R. Manley // Semin. Immunol. – 2000. - Vol. 12. - № 5. – P. 421 - 428.
563. Manni, M.L. Extracellular superoxide dismutase in macrophages augments bacterial killing by promoting phagocytosis / M.L. Manni, L.P. Tomai, C.A. Norris et al. // Am. J. Pathol. – 2011. – Vol. 178 (6). – P. 2752 – 2759.

564. Mano, Y. Interaction between glutathione and the endoplasmic reticulum in cyclic protein synthesis in sea urchin embryos / Y. Mano // *Dev. Biol.* – 1977. - Vol. 61. – № 2. - P. 273 - 286.
565. Maroder, M. The thymus at the crossroad of neuroimmune interactions / M. Maroder, D. Bellavia, A. Vacca, M.P. Felli, I. Screpanti // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* -2000. -Vol. 217. - P. 741 - 747.
566. Marsault, R. Activation by nitric oxide of guanylate cyclase in endothelial cells from brain capillaries / R. Marsault, C. Frelin // *J. Neurochem.* – 1992. – Vol. 59. – P. 942 – 945.
567. McGuire, P. J. Mitochondrial dysfunction and the aging immune system / P.J. McGuire // *Biology.* - 2019. - Vol. 8. - № 2. - P. 26. doi.org/10.3390/biology8020026.
568. Melcangi, R.C. Corticosteroids protect oligodendrocytes from cytokine-induced cell death / R.C. Melcangi, I. Cavarretta, V. Magnaghi, E. Ciusani, A. Salmaggi // *Neuroreport.* – 2000. – Vol. 11. - № 18. – P. 3969 - 3972.
569. Melov, S. Animal models of oxidative stress, aging and therapeutic antioxidant interventions / S. Melov // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2002. – Vol. 34. – P. 1395 – 1400.
570. Meneghini, R. Iron homeostasis and oxidative DNA damage / R. Meneghini, M.S. Benfato, C.R. Bertoncini // *Cancer J.* – 1995. – Vol. 8. – P. 109 – 113.
571. Milbi, T.H. Hydrogen sulfide intoxication. Review of the literature and report of unusual accident resulting in two cases of nonfatal poisoning / T.H. Milbi // *J. Occup. Med.* – 1962. - № 4. – P. 431 – 437.
572. Miller, J.F.A.P. The discovery of thymus function and thymus-derived lymphocytes / J.F.A.P. Miller // *Immunological Reviews.* – 2002. – Vol. 185. - № 1. – P. 7 - 14.
573. Mohan, M. Antioxidants prevent UV-induced apoptosis by inhibiting mitochondrial cytochrome c release and caspase activation in *Spodoptera*

- frugiperda (Sf9) cells / M. Mohan, T.K. Taneja, S. Sahdev, K. Mohareer et al. // *Cell Biol. Int.* – 2003. – Vol. 27. - № 6. – P. 483 - 490.
574. Moncada, S. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, pharmacology / S. Moncada, R.M.J. Palmer, E.A. Higgs // *Pharmacol. Rev.* – 1991. – Vol. 43. – P. 109 – 142.
575. Mongkolsuk, S. Regulation of inducible peroxide stress responses / S. Mongkolsuk, J.L. Helmann // *Mol. Microbiol.* – 2002. – Vol. 45. – P. 9 – 15.
576. Morin, B The protein oxidation product 3,4-dihydroxyphenylalanine (DOPA) mediates oxidative DNA damage / B. Morin, M.I. Davies, R.T. Dean // *Biochem. J.* – 1998. – Vol. 330. - № 3. – P. 1059 – 1067.
577. Murphy, J.K. Modulation of the alveolar macrophage respiratory burst by hydroperoxides / J.K. Muphy, C.R. Hoyal, F.R. Livingston et al. // *Free Radic. Biol. Med.* – 1995. – Vol. 18 (1). – P. 37 – 45.
578. Nagababu, E. Heme degradation by reactive oxygen species / E. Nagababu, J.M. Rifkind // *Oxygen Radicals in Biology and Medicine. – Antioxid Redox Signal.* – 2004. – Vol. 6. – P. 967 -978.
579. Nagano, T. Chemical and biochemical studies on reactivities, formations and toxicities of reactive oxygen species / T. Nagano // *Yakugaku Zasshi.* – 1991. – Vol. 111. - № 2. – P. 103 – 119.
580. Nesswetha, W. Eye lesions caused by sulfur compound / W. Nesswetha // *Arbeitsmed. Sozialmed. Arbeitshyg.* – 1969. – Vol. 4. – P. 288 – 290.
581. Nicholls, P. The effect of sulphide on cytochrome aa3. Isoteric and allosteric shifts of the reduced a-peak / P. Nicholls // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1975. - Vol. 396. – P. 24 – 28.
582. Nicholls, P. Ligand-induced spectral changes in cytochrome C oxidase and their possible significance / P. Nicholls, L. Peterson, M. Miller, F.B. Hansen // *Biochem. Biophys. Acta.* – 1976. - Vol. 449. – P. 188 – 192.
583. Noh, S.J. SP-8203 reduces oxidative stress via SOD activity and behavioral deficit in cerebral ischemia / S.J. Noh, S.H. Lee, K.Y. Shin et al. // *Pharmacol. Biochem. Behav.* – 2011. – Vol. 98 (1). – P. 150 – 154.

584. Nordgren, M. Peroxisomal metabolism and oxidative stress / M. Nordgren, M. Fransen // *Biochimie*. - 2014. - Vol. 98. - P. 56 – 62.
585. Ohkawa, H., Ohishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. / H. Ohkawa, N. Ohishi, K.Yagi // *Anal. Biochem.* – 1979. – Vol. 95. - № 2. - P. 351-358.
586. Ohtani, O. Structure and function of rat lymph node / O. Ohtani, Y. Ohtani // *Arch. Histol. Cytol.* - 2008. - Vol. 71. - № 2. - P. 69 - 76.
587. Ong, A.L.C. Role of Sirtuin1-p53 regulatory axis in aging, cancer and cellular reprogramming / A.L.C. Ong, R.A. Ramasamy // *Ageing Res. Rev.* - 2018. - Vol. 43. - P. 64-80.
588. Ortac, E. Low hair selenium and glutathione peroxidase in children with chronic renal failure / E. Ortac, O. Ozkaya, R. Saraymen et al. // *Pediatr. Nephrol.* – 2006. – Vol. 21 (11). – P. 1739 – 1745.
589. Ouchi, A. Kinetic study of the prooxidant effect of alpha-tocopherol. Hydrogen abstraction from lipids by alpha-tocopheroxyl radical / A. Ouchi, M. Ishikura, K. Konishi // *Lipids.* – 2009. – Vol. 44 (10). – P. 935 – 943.
590. Padgett, D.A. How stress influences the immune response / D.A. Padgett, R. Glaser // *Trends Immunol.* - 2003. - Vol. 24. - № 8. - P. 444 - 448.
591. Pani, G. Mitochondrial superoxide dismutase: a promising target for new anticancer therapies / G. Pani, R. Colavitti, B. Bedogni et al. // *Curr. Med. Chem.* – 2004. – Vol. 11 (10). – P. 1299 – 1308.
592. Patty, F.A. Industrial hygiene and toxicology / F.A. Patty. - Interscience, New York. – 1949. – Vol. 2.
593. Peterson, L.C. The effect of inhibitors on the oxygen kinetics of cytochrome C oxidase / L.C. Peterson // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1977. - Vol. 460. - № 2. – P. 199 – 305.
594. Phaneuf, S. Cytochrome c release from mitochondria in the aging heart: a possible mechanism for apoptosis with age / S. Phaneuf, C. Leeuwenburgh // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2002. – Vol. 282. - № 2. – P. 423 - 430.

595. Poda, G.A. Hydrogen sulfide can be handled safely / G.A. Poda // Arch. Environ. Health - 1966. - Vol. 12 (6). - P. 795 – 800.
596. Pou, S. Generation of superoxide by purified brain nitric oxide synthase / S. Pou, W.S. Pou, D.S. Bredt et al. // J. Biol. Chem. – 1992. – Vol. 267. – P. 24173 – 24176.
597. Pronai, L. 5,5-dimethyl-1-pyrroline-N-oxide alone enhances the spontaneous superoxide generation by primaquine / L. Pronai, K. Ichimori, Y. Saigusa, H. Nakazawa // Arch. Biochem. and Biophys. – 1991. – Vol. 288. – P. 276 – 281.
598. Pryor, W.R. Free radical biology and medicine: it's a gas, man! / W.R. Pryor, K.N. Houk, C.S. Foote et al. // Am J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol. – 2006. – Sep. - Vol. 291 (3). – P. 491 – 511.
599. Quintana, A. T cell activation requires mitochondrial translocation to the immunological synapse / A. Quintana, C. Schwindling, A. S. Wenning et al. // Proc. nat. Acad. Sci. USA. - 2007. - Vol. 104. - № 36. - P. 14418–14423.
600. Rabinowitch, H. D., Fridovich L. Superoxide radicals, superoxide dismutases and oxygen toxicity in plants / H.D. Rabinowitch, L. Fridovich // Photochem. Photobiol. -1983. - № 6. - P. 679 - 690.
601. Rao, G. Effect of age on the expression of antioxidant enzymes in male Fischer 344 rats / G. Rao, E. Xia, A. Richardson // Mech. Ageing and Dev. – 1990. - Vol. 53. - № 1. – P. 49 – 60.
602. Rea, I.M. Age and age-related diseases: Role of inflammation triggers and cytokines / I.M. Rea, D.S. Gibson, V. McGilligan et al. // Front. Immunol. - 2018. - Vol. 9. - P. 586.
603. Reid, T.M., Feig D.I., Loeb L.A. Mutagenesis by metal-induced oxygen radicals / T.M. Reid, D.I. Feig, L.A. Loeb // Environ. Health Perspect. - 1994. - Vol. 102. Suppl. 3. - P. 57 - 61.
604. Reiffenstein, R.J. Toxicology of hydrogen sulfide / R.J. Reiffenstein, W.C. Hulbert, S.H. Roth // Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. - 1992. – Vol. 32. - P. 109 - 134.

605. Ren, J.C. Cytochrome C oxidase integrity during the process in *Drosophila melanogaster*/ J.C. Ren, I. Rebrin, V. Klichko et al. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* – 2010. – Vol. 401 (1). – P. 64 – 68.
606. Roberts, N. Developing stratified epithelia: lessons from the epidermis and thymus. / N. Roberts, V. Horsley // *Rev. Dev. Biol.* - 2014. Doi : 10.1002/wdev.146.
607. Ronk, R. Hydrogen sulfide and probabilities of inhalation through a tympanic membrane defect / R. Ronk, M.K. White // *J. Occup. Med.* – 1985. - Vol. 27(5). - P. 337 - 340.
608. Roth, S.H. Alteration of the morphology and neurochemistry of the developing mammalian nervous system by hydrogen sulphide / S.H. Roth, B. Skrajny, R.J. Reiffenstein // *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* - 1995. - Vol. 22 (5). - P. 379 - 380.
609. Rubanyi, C.M. Vascular effects of oxygen-derived free radicals / C.M. Rubanyi // *Free Radical Biol. And Med.* – 1988. – Vol. 4. – P. 107 – 121.
610. Rutter, J. Succinate dehydrogenase – assembly, regulation and role in human disease / J. Rutter, D.R. Winge, J.D. Schiffman // *Mitochondrion.* – 2010. - Vol. 10 – P. 393 – 401.
611. Saillenfait, A.M. Effects of inhalation exposure to carbon disulfide and its combination with hydrogen sulfide on embryonal and fetal development in rats / A.M. Saillenfait, P. Bonnet, J. de-Ceaurriz // *Toxicol. Lett.* - 1989. - Vol. 48 (1). - P. 57 - 66.
612. Sakagami, H. Effect of  $\alpha$ -tocopherol on cytotoxicity induced by uv irradiation and antioxidants / H. Sakagami, K. Saton, Y. Mokino et al. // *Anticancer Res.* – 1997. – Vol. 17. – P. 2079 – 2082.
613. Sakai, H. Studies on sulfhydryl groups during cell division of sea urchin eggs / H. Sakai, K. Dan // *Exp. Cell Res.* – 1959. - Vol. 16. - №. 1. - P. 24 - 41.
614. Samukawa, K. Protective effect of ginsenosides Rg(2) and Rh(1) on oxidation-induced impairment of erythrocyte membrane properties / K.

- Samukawa, Y. Suzuki, N. Ohkubo et al. // *Biorheology*. – 2008. – Vol. 127 (4). – P. 689 – 700.
615. Sastre, J. Mitochondrial oxidative stress plays a key role in aging and apoptosis / J. Sastre, F.V. Pallardo, J. Vina / *Life*. – 2000. - Vol. 49 – P. 427 - 435.
616. Selye, H. The nature of stress / H. Selye // *Basal Facts*. – 1985. – Vol. 7 (1). – P. 3-11.
617. Sen, C.K. Physiological antioxidants / C.K. Sen, O. Hanninen // *Exercise and oxygen* . – Amsterdam. – 1994. - P. 89 – 126.
618. Schulber, D. Oxidative glutamate toxicity can be a component of the excitotoxicity cascade / D. Schulber, D. Piasecki // *J. Neurosci*. – 2001. – Vol. 21. - № 19. - P. 7455 - 7462.
619. Scialo, F. Role of mitochondrial reverse electron transport in ROS signaling: Potential roles in health and disease / F. Scialo, D.J. Fernandez-Ayala, A. Sanz // *Front. Physiol*. - 2017. - Vol. 8. - P. 428.
620. Shacter, E. Quantification and signification of protein oxidation in biological samples / E. Shacter // *Drug Metab. Rev*. – 2000. – Vol. 32. – P. 307 – 326.
621. Shinohara, R. Lipid peroxidation levels in rat cardiac muscle are affected by age and thyroid status / Shinohara R., T. Mano, A. Nagasaka et al. // *J. Endocrinol*. – 2000. – Vol. 164. - № 1. – P. 97 - 102.
622. Sies, H. Oxidative stress – from basic research to clinical application / H. Sies // *Am. J. Med*. – 1991. – Vol. 91. – Suppl. 3c. - P. 531 - 538
623. Simson, R.E. Fatal hydrogen sulfide poisoning associated with industrial waste exposure / R.E. Simson, G.R. Simpson // *Med. J. Aust*. - 1971. – Vol. 1. - P. 331 - 334.
624. Sinha, J. Liposomal antioxidants in combating ischemia-reperfusion injury in rat brain / J. Sinha, N. Das, M.K. Basu // *Biomed. Pharmacother*. – 2001. – Vol. 55. - № 5. – P. 264 – 271.



625. Smith, R.P. Hydrogen sulfide poisoning / R.P. Smith, R.E. Gosselin // L. Occup. Med. – 1979. – Vol. 21. - № 2. – P. 93 - 97.
626. Sodergren, E. Vitamin E reduces lipid peroxidation in experimental hepatotoxicity in rats / E. Sodergren, J. Cederberg, B. Vessby, S. Basu // Europ. J. Nutr. – 2001. – Vol. 40. - № 1. – P. 10-16.
627. Sohal, R.S. The redox stress hypothesis of aging / R.S. Sohal, W.C. Orr // Free Radic. Biol. Med. – 2012. – Vol. 52. - №3. – P. 539 – 555.
628. Son, J.M. Mitochondria: multifaceted regulators of aging / J.M. Son, C. Lee // BMB Rep. - 2019. - Vol. 52. - № 1. - P. 13 – 23.
629. Spiteller, G. The relation of lipid peroxidation processes with atherogenesis: a new theory on atherogenesis / G. Spiteller // Mol. Nutr. Food Res. – 2005. – Vol. 49 (11). – P. 999 – 1013.
630. Stralin, P. Multiple cytokines regulate the expression of extracellular superoxide dismutase in human vascular smooth muscle cells / P. Stralin, S.L. Marclund // Atherosclerosis. - 2000. – Vol. 151 (2). – P. 433 – 441.
631. Suzuki, Y.J. Inhibition of Ca<sup>2+</sup> - ATPase of vascular smooth muscle sarcoplasmic reticulum by reactive oxygen intermediates / Y.J. Suzuki, G.D. Ford // Amer. J. Physiol. – 1991. – Vol. 261. – P. 568 – 574.
632. Takahashi, M. Water-soluble CoQ<sub>10</sub> as a promising anti-aging agent for neurological dysfunction in brain mitochondria / M. Takahashi, K. Takahashi // Antioxidants (Basel). - 2019. - Vol. 8. - № 3. - P. E61.
633. Tawa, M. Impairment by hypoxia or hypoxia/reoxygenation of nitric oxide-mediated relaxation in isolated monkey coronary artery: the role of intracellular superoxide / M. Tawa, K. Yamamizu, A. Gedday et al. // J. Pharmacol. Sci. – 2011. – Vol. 116 (2). – P. 188 – 196.
634. Telci, A. Oxidative protein damage in early stage Type 1 diabetic patients / A. Telci, U. Cakatay, S. Salman et al. // Diabetes Res. Clin. Pract. – 2000. – Vol. 50 (3). – P. 213 – 223.
635. Teply, D.L. Neurophysiological effects of vitamin E / D.L. Teply. Astrakhan: Astrakhan University. - 2010. - 249p.

636. Tetik, S. Determination of oxidant stress in plasma of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis patients / S. Tetik, S. Ahmad, A.A. Alturfan et. al. // *Indian J. Biochem. Biophys.* – 2010. – Vol. 47 (6). – P. 353 – 358.
637. Togashi, H. A central nervous system action of nitric oxide in blood pressure regulation / H. Togashi, I. Sakuma, M. Yoshioka, T. Kobayashi et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* - 1992. - Vol. 262. – P. 343–347.
638. Tvedt, B. H<sub>2</sub>S poisoning and nervous system damage / B. Tvedt, K. Skyberg, O. Aaserud, A. Edland // *Tidsskr. Nor. Laegeforen.* - 1989. - Vol. 109 (19-21). - P. 2007 - 2011.
639. Uchida, K. 4-Hydroxy-2-nonenal: a product and mediator of oxidative stress / K. Uchida // *Prog. Lipid Res.* – 2003. – Vol. 29. - P. 217 – 229.
640. Vineetha, R.C. L-ascorbic acid and  $\alpha$ -tocopherol attenuate arsenic trioxide-induced toxicity in H9c2 cardiomyocytes by the activation of Nrf2 and Bcl2 transcription factors / R. C. Vineetha, P. Binu, P. Arathi, R. H. Nair // *Toxicol. Mech. Methods.* - 2018. - Vol. 28. - № 5. - P. 353–360.
641. Walker, C.L. Redox regulation of homeostasis and proteostasis in peroxisomes / C.L. Walker, L.C.D. Pomatto, D.N.Tripathi, K.J.A. Davies // *Physiol. Rev.* - 2018. - Vol. 98. - № 1. - P. 89 – 115.
642. Wallace, J.L. Hydrogen Sulfide-Based Therapeutics: Exploiting a Unique but Ubiquitous Gasotransmitter / J.L. Wallace, R. Wang // *Nat. Rev. Drug Discov.* - 2015. - Vol. 14. - № 5. - P. 329 – 345.
643. Ward, P.A. Oxidative stress: acute and progressive lung injury / P.A. Ward // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* – 2010. – 1203. – P. 53 – 59.
644. Weitzel, F. Selenoenzymes regulate the activity of leukocyte 5-lipoxygenase via the peroxide tone / F. Weitzel, A. Wendel // *J. Biol. Chem.* – 1993. – Vol. 68 (9). – P. 6288 – 6292.
645. Wilson, J.X. Antioxidant defense of the brain: a role for astrocytes / J.X. Wilson // *Western Ontario – London.* – 1997. – P. 1149 – 1158.

646. Winterbourn, C.C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species / C.C. Winterbourn // *Nat. Chem. Biol.* – 2008. – Vol. 4 (5). – P. 278 – 286.
647. Wong, H.S. Production of superoxide and hydrogen peroxide from specific mitochondrial sites under different bioenergetic conditions / H.S. Wong, P.A. Dighe, V. Mezera et al. // *J. Biol. Chem.* - 2017. - Vol. 292. - № 41. - P. 16804 – 16809.
648. Wyllie, A.H. Apoptosis: cell death in tissue regulation / A.H. Wyllie // *J. Pathol.* – 1987. – Vol. 153. – P. 313 – 316.
649. Yakes, F.M. Mitochondrial DNA damage is more extensive and persists longer than nuclear DNA damage in human cells following oxidative stress / F.M. Yakes, B. Vanhouten // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 514 – 519.
650. Yan, L.J. Oxidative damage during aging targets mitochondrial aconitase / L.J. Yan, R.L. Levine, R.S. Sohal // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1997. – Vol. 94. – P. 11168.
651. Yant, W.P. Hydrogen sulfide in industry, occurrence, effect and treatment / W.P. Yant // *Am. J. Public Health.* - 1930. - Vol. 20. - P. 598 - 608.
652. Yamagishi, S. Olmesartan blocks inflammatory reactions in endothelial cells evoked by advanced glycation and products by suppressing generation of reactive oxygen species / S. Yamagishi, T. Matsui, K. Nakamura et al. // *Ophthalmic Res.* – 2008. – Vol. 40 (1). – P. 10 – 15.
653. Yamamoto, Y. An unusual vitamin E constituent (n-tocomonoenol) provides enhanced antioxidant protection in marine organisms adapted to cold-water environments / Y. Yamamoto, A. Fujisawa, A. Hara, W.C. Dunlap // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2001. – Vol. 98. – P. 13144 - 13148.
654. Yasumasu, J. Periodic changes in the content of adenosine – 3,5-cycle monophosphate with close relation to the cycle of cleavage in the sea urchin egg / J. Yasumasu, A. Pujiwara, I. Katasumi // *Biochem. Biophys. Res. Com.* – 1973. - Vol. 54. - №. 2. – P. 628 - 632.

655. Yoo, J.H. Oxidative status in iron-deficiency anemia / J.H. Yoo, H.Y. Maeng, Y.K. Sun et al. // *J. Clin. Lab. Anal.* – 2009. – Vol. 23 (5). – P. 319 – 323.
656. Yusnita, Y. Mutations in mitochondrial NADH dehydrogenase subunit 1 (mtND1) gene in colorectal carcinoma / Y. Yusnita, M.D. Norsiah, A.J. Rahman // *Malays J. Pathol.* – 2010. – Vol. 32 (2). – P. 103 – 110.
657. Zahrt, T.C. Reactive nitrogen and oxygen intermediates and bacterial defenses: Unusual adaptations in *Mycobacterium tuberculosis* / T.C. Zahrt, V. Deretic // *Antioxid. Redox Signal.* – 2002. – Vol. 4. – P. 141 – 159.
658. Zheng, X. Effects of cadmium exposure on lipid peroxidation and the antioxidant system in fourth-instar larvae *Prosilocerus akamusi* (Diptera: Chromiidae) under laboratory conditions / X. Zheng, W. Long, Y. Guo et al. // *J. Econ. Entomol.* – 2011. – Vol. 104 (3). – P. 827 – 832.