

УДК 57.045:57.084.1:612.4

ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ НА ОРГАНИЗМ КРЫС ИСТОЩАЮЩЕЙ ФИЗИЧЕСКОЙ НАГРУЗКИ С ОХЛАЖДЕНИЕМ В СОЧЕТАНИИ С ИЗМЕНЕННЫМ СВЕТОВЫМ РЕЖИМОМ

Гмошинский И.В.¹, Аксенов И.В.¹, Сидорова Ю.С.¹, Петров Н.А.¹, Гусева Г.В.¹, Трушина Э.Н.¹, Мустафина О.К.¹, Чалый З.А.¹, Конев А.Д.¹, Трусов Н.В.¹, Ригер Н.А.¹, Мазо В.К.¹, Никитюк Д.Б.^{1,2,3}, Тутельян В.А.^{1,3}

¹ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», Москва, Россия

²Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы, Москва, Россия

³ФГАОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Россия

Разработка специализированных пищевых продуктов для профилактики и коррекции последствий воздействия на человека неблагоприятных условий Крайнего Севера требует проведения доклинических исследований на адекватных *in vivo* моделях.

Цель работы: изучить последствия сочетанного воздействия на организм крыс низких температур окружающей среды в условиях тяжелой физической работы («холод») и сокращенного периода светового дня («световой режим»).

Методы. Исследование проведено на 4 группах крыс самцов линии Вистар, из которых первая была контрольной, вторая на протяжении 30 сут подвергалась истощающей физической нагрузке с охлаждением (плавание в воде температурой 18-20°C 5 раз в нед.), третья - измененным условиям освещенности (4 часа – свет, 20 – темнота против 12/12 ч в контроле), четвертая - сочетанию обоих факторов. Определяли массу тела и внутренних органов, гистологические показатели печени, почек, надпочечников и тонкой кишки, уровни катехоламинов, тиреоидных гормонов, кортикостерона, цитокинов и хемокинов, глутатиона печени, ферментов антиоксидантной защиты, биохимические и гематологические индикаторы.

Результаты. У крыс трех экспериментальных групп при сравнении с контролем выявлен ответ 40 показателей. Наибольшее число изменений биомаркеров – 25 (из них 19 статистически значимых при $p < 0,05$) - отмечено в четвертой группе.

Заключение. Сочетание холода в условиях истощающей физической нагрузки и сокращенной продолжительности светового дня оказывает наибольшее воздействие на организм экспериментальных животных, не вызывая у них серьезной органической патологии и летальности, что позволяет использовать такую экспериментальную модель при оценке эффективности специализированных пищевых продуктов с адаптогенным действием в доклинических исследованиях.

Ключевые слова: холодное воздействие, световой режим, крысы, гормоны надпочечников, биомаркеры, стресс, адаптация, специализированное питание.

Для цитирования: Гмошинский И.В., Аксенов И.В., Сидорова Ю.С., Петров Н.А., Гусева Г.В., Трушина Э.Н., Мустафина О.К., Чалый З.А., Конев А.Д., Трусов Н.В., Ригер Н.А., Мазо В.К., Никитюк Д.Б., Тутельян В.А. Оценка влияния на организм крыс истощающей физической нагрузки с охлаждением в сочетании с измененным световым режимом. Медицина труда и экология человека. 2024;1:230-252.

Для корреспонденции: Гмошинский Иван Всеволодович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории пищевой токсикологии и оценки безопасности нанотехнологий ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», e-mail: gmosh@ion.ru.

Финансирование: работа проведена за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы фундаментальных научных исследований (тема Минобрнауки России № FGMF-2022-0001).

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2024-10114>

ASSESSMENT OF THE IMPACT OF EXHAUSTIVE PHYSICAL ACTIVITY WITH COOLING COMBINED WITH CHANGED LIGHT MODE ON EXPERIMENTAL RATS

I.V.Gmoshinsky^{1*}, I.V.Aksenov¹, Yu.S.Sidorova¹, N.A.Petrov¹, G.V.Guseva¹, E.N.Trushina¹, O.K.Mustafina¹, Z.A.Chaly¹, A.D.Konev¹, N.V.Trusov¹, N.A.Riger¹, V.K.Mazo¹, D.B.Nikityuk^{1,2,3}, V.A.Tutelyan^{1,3}

¹Federal Research Centre for Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russia,

²The Patrice Lumumba Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

³The Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia.

The development of specialized food products for the prevention and correction of human exposure consequences to the Far North conditions requires preclinical research on adequate in vivo models.

Aim: to study the consequences of combined effects of low ambient temperatures under conditions of heavy physical work ("cold") and shortened longitude of daylight time ("light regimen") on rats.

Methods. The study was carried out on 4 groups of male Wistar rats, of which the first was a control, the second was subjected to exhausting physical activity with cooling for 30 days (swimming in water at a temperature of 18-20°C 5 times a week), the third was

subjected to altered "light regimen" (4 hours - light, 20 - darkness versus 12/12 hours in the control), the fourth - a combination of both factors. We determined the weight of the body and internal organs, histological indices of the liver, kidneys, adrenals and small intestine, levels of catecholamines, thyroid hormones, corticosterone, cytokines and chemokines, liver glutathione, antioxidant enzymes, biochemical and hematological parameters.

Results. In rats of three experimental groups, when compared with the control, a response of 40 indicators was revealed. The largest number of changes of biomarkers – 25 (of which 19 were statistically significant at $p < 0,05$) was noted in the group experiencing the combined effects of "cold" and "light regimen".

Conclusion. The combination of cold under conditions of exhausting physical activity and reduced daylight hours had the greatest impact on the body of experimental animals, without causing serious organic pathology and mortality among them, which allows the use of such an experimental model for assessing the effectiveness of specialized food products with adaptogenic effects in preclinical studies.

Keywords: cold exposure, light regimen, rats, hormones of adrenals, biomarkers, stress, adaptation, specialized nutrition

For citation: Gmoshinsky I.V., Aksenov I.V., Sidorova Yu.S., Petrov N.A., Guseva G.V., Trushina E.N., Mustafina O.K., Chaly Z.A., Konev A.D., Trusov N.V., Riger N.A., Mazo V.K., Nikityuk D.B., Tutelyan V.A. Assessment of the impact of exhaustive physical activity with cooling combined with changed light mode on experimental rats. Occupational health and human ecology. 2024;1:230-252.

For correspondence: Ivan V. Gmoshinsky, Doct. of Sci. (Biology), leading researcher at the Laboratory of Food Toxicology and Nanotechnology Safety Assessment of the Federal Research Center for Nutrition and Biotechnology, e-mail: gmosh@ion.ru.

Financing: The work was carried out using subsidies for the implementation of a state task within the framework of the Basic Scientific Research Program (topic of the Russian Ministry of Education and Science No. FGMF-2022-0001).

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

DOI: <http://dx.doi.org/10.24412/2411-3794-2024-10114>

Введение

Ускоренное развитие промышленного комплекса регионов Крайнего Севера, богатых полезными ископаемыми и другими природными ресурсами, является одной из приоритетных задач экономики России. Однако при нахождении в течение продолжительного времени в условиях Заполярья организм человека подвергается воздействию комплекса не способствующих нормальной

жизнедеятельности факторов, из которых наибольшее значение имеют низкие температуры окружающей среды, экстремальная физическая нагрузка и нарушенный фотопериод (продолжительная полярная ночь или полярный день) [1]. Похожие сочетания вредных воздействий (холод+физическая нагрузка+нарушение ритма сна и бодрствования) могут быть вызваны природными и техногенными катастрофами, пребыванием на больших высотах, интенсивными спортивными тренировками. В совокупности это может приводить к нарушению адаптации, при котором повышается риск развития сердечно-сосудистых, эндокринных, аутоиммунных, психических заболеваний и усугубляется тяжесть их течения; предположительно, возрастает вероятность возникновения некоторых форм рака [2]. Адекватное питание является одним из важнейших средств, помогающих организму адаптироваться к неблагоприятным условиям в Заполярье [3]. Имеются данные о полезном воздействии на организм при холодовой нагрузке таких пищевых веществ, как витамины С и Е, селен, цинк, коэнзим Q10, карнозин, коричные кислоты и биофлавоноиды, аминокислота тирозин [4-9]. Для объективной оценки с позиций доказательной медицины эффективности этих биологически активных веществ пищи необходимы доклинические исследования *in vivo*. Воспроизведение холодовой нагрузки в эксперименте на животных может осуществляться путем кратковременного воздействия на крыс и мышей экстремально низких температур окружающего воздуха [10] или их погружения в холодную воду [11], что сочетается с интенсивной физической нагрузкой животных при плавании или, напротив, с иммобилизацией. Другая группа моделей основана на содержании животных в условиях нарушенного светового режима при сокращенном до 2-4 часов светлом периоде суток либо же при беспорядочном следовании светлых и темных периодов [12]. В качестве чувствительных биомаркеров, определяющих реакцию организма на неблагоприятные воздействия и достигаемую в условиях эксперимента адаптацию к ним, используются изменения в крови и тканях животных уровней катехоламинов, тиреоидных гормонов, глюкокортикоидов, глутатиона, ферментов антиоксидантной защиты, липоперекисей, цитокинов (IL-6, IL-17, INF- γ , FGF21 и др.), разобщающих белков семейства UCP, микро-РНК [2]. Известно, что сходный ответ многих из этих факторов наблюдается как на модели животных, содержащихся при нарушенном фотопериоде, так и подвергающихся холодовой экспозиции. Вместе с тем в литературе отсутствуют сведения о возможности моделирования на животных сочетанного действия обоих этих неблагоприятных факторов, что

могло бы рассматриваться как более реалистическая модель нахождения организма в условиях Заполярья.

Целью настоящего исследования является сравнительная оценка воздействия на крыс-самцов линии Вистар холода при избыточной физической нагрузке, измененной продолжительности светового дня с преобладанием темного периода (далее – «световой режим») и комбинации этих факторов, а также разработка метода анализа катехоламинов, являющихся ключевыми маркерами состояния адаптации и дизадаптации, в биосубстратах животных.

Материалы и методы исследования

Экспериментальные животные и модель. Исследование проведено на 48 крысах-самцах линии Вистар, полученных из питомника «Столбовая» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий ФМБА России», с исходным возрастом 8 недель. Работу выполняли в соответствии с правилами надлежащей лабораторной практики и международными рекомендациями по гуманному обращению с животными [13]. Дизайн исследования был одобрен Комитетом по этике ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», протокол № 7 от 14.10.2022 г. После недельного карантина крысы были разделены на 4 группы численностью по 12 особей. Для корректного разделения животных по группам использовали показатели поведения каждой из крыс в тесте «Открытое поле» [14]. Рандомизировали количество пересеченных зон, время, проведенное в каждой зоне, пройденную дистанцию с помощью системы видеонаблюдения «Smart 3.0.04» производства фирмы Panlab, Испания. В результате этого изначальное различие по всем этим параметрам между четырьмя группами было статистически незначимым ($p > 0,1$; ANOVA).

На протяжении всего эксперимента крыс содержали по две особи в клетках из поликарбоната на подстилке из опилок при свободном доступе к рациону и воде. Состав сбалансированного полусинтетического рациона соответствовал ГОСТу Р 70355–2022 «Продукция пищевая специализированная. Общие требования к проведению доклинических испытаний на лабораторных животных». Для питья животных использовали воду, полученную методом обратного осмоса в установке «Milli-RO» производства фирмы «Waters» (США). Крысы группы 1 являлись контрольными, не подвергались каким-либо воздействиям, их содержали при чередовании светлого и темного периода 12/12 часов. На протяжении 4 недель и 2 сут. (всего 30 сут.) эксперимента крыс группы 2 подвергали 5 раз в неделю в

течение 13 мин плаванию в холодной воде (температура +20°C в первые 2 недели с последующим снижением до +18°C) (группа «холод+физическая нагрузка»). По окончании процедуры животных немедленно обтирали хлопчатобумажной тканью и сушили шерсть теплым воздухом из фена. Животных группы 3 содержали при ежесуточном чередовании 4 ч освещения и 20 ч темноты (группа «световой режим»). Животные группы 4 подвергались тем же воздействиям, что и крысы групп 2 и 3, в комбинации (группа «холод+физическая нагрузка+световой режим»). Массу тела крыс определяли 2 раза в нед. на электронных весах с погрешностью ± 1 г.

На 27-28-е сут. эксперимента у крыс собирали мочу в обменных клетках. Выведение животных из эксперимента осуществляли на 30-е сут. путем декапитации под эфирной анестезией. На секции отбирали кровь, органы (печень, почки, надпочечники, подвздошная кишка, селезенка, сердце, тимус, легкие, гонады, головной мозг) и определяли их массу с погрешностью $\pm 0,1$ г. Относительную массу внутренних органов рассчитывали в % от массы тела.

Методы лабораторных исследований. Ткани печени, почек, надпочечников, подвздошной кишки фиксировали 3,7% раствором формальдегида в 0,1 М Na-фосфатном буфере pH 7,0, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации и ксилоле, заливали в парафин, нарезали на срезы толщиной 5 мкм на санном микротоме, монтировали на предметных стеклах и окрашивали гематоксилин-эозином. Микропрепараты просматривали, фотографировали и измеряли на микроскопе Axio Imager Z1 (фирма Carl Zeiss, Германия) с фотокамерой AxioCam HRc (Carl Zeiss), при увеличении $\times 50$, $\times 100$ и $\times 400$. Морфометрию выполняли с помощью программного обеспечения AxioVision Rel.4.8 (Carl Zeiss) и с применением калибровочного слайда X/Y (фирма Микромед, Россия); цена деления шкалы – 10 мкм.

Лейкоцитарную формулу цельной крови крыс изучали на гематологическом анализаторе «Coulter AC TTM 5 diff OV» («Beckman Coulter», США) с набором реагентов («Beckman Coulter», Франция). Активность метоксирезорусиндеалкилазы (CYP1A2), УДФ-глюкуронозил-трансферазы, глутатионпероксидазы, супероксиддисмутазы определяли в гомогенатах печени крыс стандартными методами согласно [15], содержание восстановленного глутатиона – спектрофотометрическим методом с реактивом Элмана.

При анализе содержания в сыворотке крови крыс каталазы, фактора роста фибробластов FGF-21, тиреоидных гормонов (Т3, Т4) и гормона пучковой зоны

коры надпочечников - кортикостерона использовали иммуноферментные наборы фирмы Cloud-Clone Corporation (Katy, TX 77494, США); измерения проводили на фотометре Multiscan производства фирмы Thermo-Fisher Scientific (Финляндия). Определение в сыворотке крови уровней цитокинов IFN- γ , IL-10, IL-12(p70), IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, IL-17A, MIP-1 β , TNF- α , адипокинов грелина и лептина выполняли методом мультиплексного иммуноанализа на приборе Luminex 200 (фирма Luminex Corporation, США) по технологии xMAP с использованием программного обеспечения Luminex xPONENT Version 3.1 и набора Bio-Plex Pro™ Reagent Kit V, дополненного реагентами Bio-Plex Pro™ (Pro-Rat 33-Plex Standards, Rat Cytokine IL-1b Set, Rat Cytokine IL-4 Set, Rat Cytokine IL-6 Set, Rat Cytokine IL-10 Set, Rat Cytokine IL-17A Set) производства фирмы «Bio-Rad Laboratories, Inc.» (США). Содержание глюкозы, триглицеридов, общего, ЛПВП- и ЛПНП-холестерина, общего белка, альбуминов, креатинина, мочевины, активности аланиновой (АЛТ) и аспарагиновой (АСТ) аминотрансфераз в сыворотке крови и креатинина в моче исследовали на биохимическом анализаторе «Konelab 20i» (фирма Thermo Fischer Scientific, Финляндия) по методикам и с использованием наборов реактивов фирмы-изготовителя. Содержание 8-оксо-2-дезоксигуанозина в моче определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ-МС) с масс-спектрометрическим детектированием.

Содержание катехоламинов (дофамина, норадреналина и адреналина) в моче крыс определяли методом ВЭЖХ-МС с масс-спектрометрическим детектированием. Диапазон измеряемых концентраций составил от 2 до 400 нг/мл. К 500 мкл мочи добавляли 25 мкл водного раствора (1 мг/мл) аскорбиновой кислоты, 500 мкл холодного ацетонитрила, перемешивали в течение 30 с и охлаждали при температуре -18 °С в течение 30 мин. После центрифугирования в течение 10 мин при ускорении 18000 g в новую пробирку вносили 200 мкл надосадка, 300 мкл 0,1 М раствора карбонатного буфера pH 10,6, 100 мкл 2% раствора бензоилхлорида в ацетонитриле, перемешивали в течение 20 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин. Использовали калибровочные стандартные растворы дофамина, норадреналина, адреналина в метаноле с концентрациями от 5 до 1000 нг/мл. 200 мкл стандартного раствора упаривали досуха в токе азота, добавляли 200 мкл раствора аскорбиновой кислоты 50 мкг/мл в 50% ацетонитриле, 300 мкл раствора 0,1 М карбонатного буфера, 100 мкл 2% раствора бензоилхлорида в ацетонитриле, перемешивали в течение 20 с и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин. Измерения проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1200 (Agilent Technologies Inc,

США) и масс-спектрометрического детектора Thermo TSQ Quantum Access MAX (Thermo Fisher Scientific Inc, США). Условия измерения: объем вкола 5 мкл; колонка Thermo Hypersil GOLD C18 2.1*50 мм с зернением 3 мкм (Thermo Fisher Scientific Inc, США); температура термостата колонок 40 °С; градиентный режим элюирования (фаза А - 0,1% муравьиная кислота в воде; фаза В - 0,1% муравьиная кислота в метаноле); скорость потока 500 мкл/мин.

Статистическая обработка результатов эксперимента. В целях повышения стабильности и сходимости результата предварительно проводили исключение грубых погрешностей (выпадающих результатов измерений) согласно критерию Граббса. Число исключаемых значений не превышало одного в каждой группе. Соответствие распределения значений нормальному закону оценивали с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Проводили расчет выборочного среднего M , стандартной среднеквадратичной ошибки $s.e.m.$ Для показателей с распределением, не соответствующим нормальному, определяли медиану, максимальное и минимальное значения, квартильный интервал. Значимость различий между группами устанавливали с помощью одно- и трехфакторного дисперсионного анализа ANOVA, непараметрического критерия Манна-Уитни в качестве *post hoc* теста. Различия принимали как значимые при $p < 0,05$.

Результаты

Интегральные показатели животных. На протяжении эксперимента крысы всех групп равномерно прибавляли в массе тела, причем скорость прибавки массы была наименьшей в группе 2 («холод+физическая нагрузка»). Однако статистически значимых различий между группами в массе животных выявлено не было (рис.1, а, б). При выведении из эксперимента на 30-е сут у крыс группы 4 («холод+физическая нагрузка+световой режим») отмечалась повышенная по сравнению с контролем относительная масса сердца, а также увеличенная ($p=0,005$) масса селезенки по сравнению с группой 2 («холод+физическая нагрузка»). При этом масса тимуса животных группы 4 была значимо ниже, чем в контроле. Различий в относительной массе других органов во всех опытных группах при сравнении с контролем не наблюдали (рис.1 в).

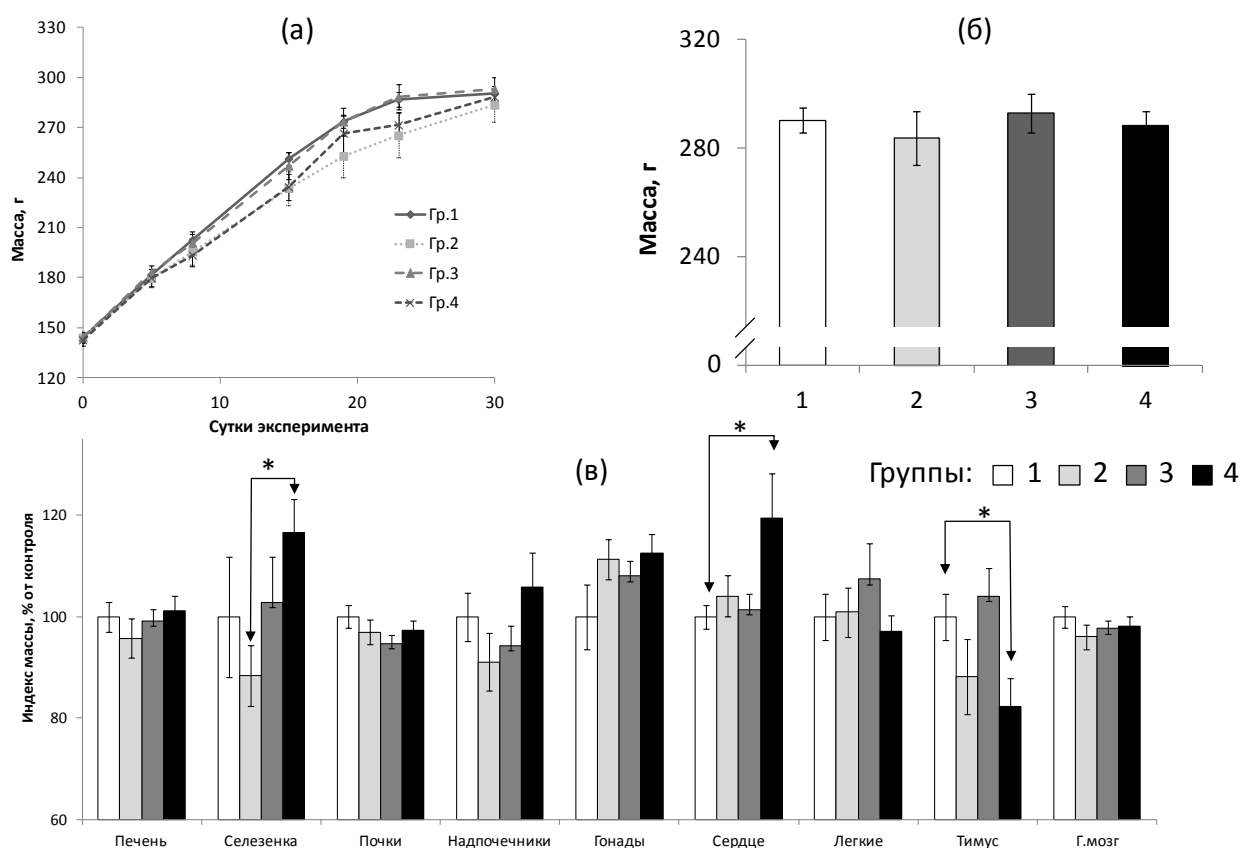


Рис. 1. Интегральные показатели крыс: а) масса тела ($M \pm s.e.m.$) на протяжении эксперимента; б) средняя масса тела ($M \pm s.e.m.$) при выведении из эксперимента на 30-е сут.; в) относительная масса внутренних органов ($M \pm s.e.m.$), выраженная в % от величины для животных 1-й (контрольной) группы. *- различие значимо, $p < 0,05$, критерий Манна - Уитни между соединенными стрелкой группами. Число животных - по 12 в группе.

Fig. 1. Integral indicators of rats: a) body weight ($M \pm s.e.m.$) during the experiment; б) average body weight ($M \pm s.e.m.$) upon withdrawal from the experiment on the 30th day; в) relative mass of internal organs ($M \pm s.e.m.$), expressed as % of the value for animals of the 1st (control) group. *- the difference is significant, $p < 0.05$, Mann-Whitney test between groups connected by an arrow. The number of animals - 12 per group

Морфология внутренних органов. У крыс контрольной группы в паренхиме печени наблюдалось образование крупных жировых вакуолей, лишенных видимой внутренней структуры (рис.2 а). Эти образования практически полностью исчезли в печени крыс группы 2, а в группе 3 («световой режим») и группе 4 их количество было значимо снижено (рис.2 б, ж), отмечалось их концентрирование в периваскулярной области дольки. С другой стороны, у печени крыс группы 4 имелось значительное число гепатоцитов с признаками внутриклеточной цитоплазматической вакуолизации (наличие многочисленных мелких жировых

капель в перинуклеарной области клетки) (рис.2 в), тогда как в других опытных группах и в контроле такие клетки практически отсутствовали (рис.2 ж). В печени крыс групп 2 и 4 отмечалось снижение числа двухъядерных клеток, в группе 4 – возрастание числа микроядер (рис.2 ж).

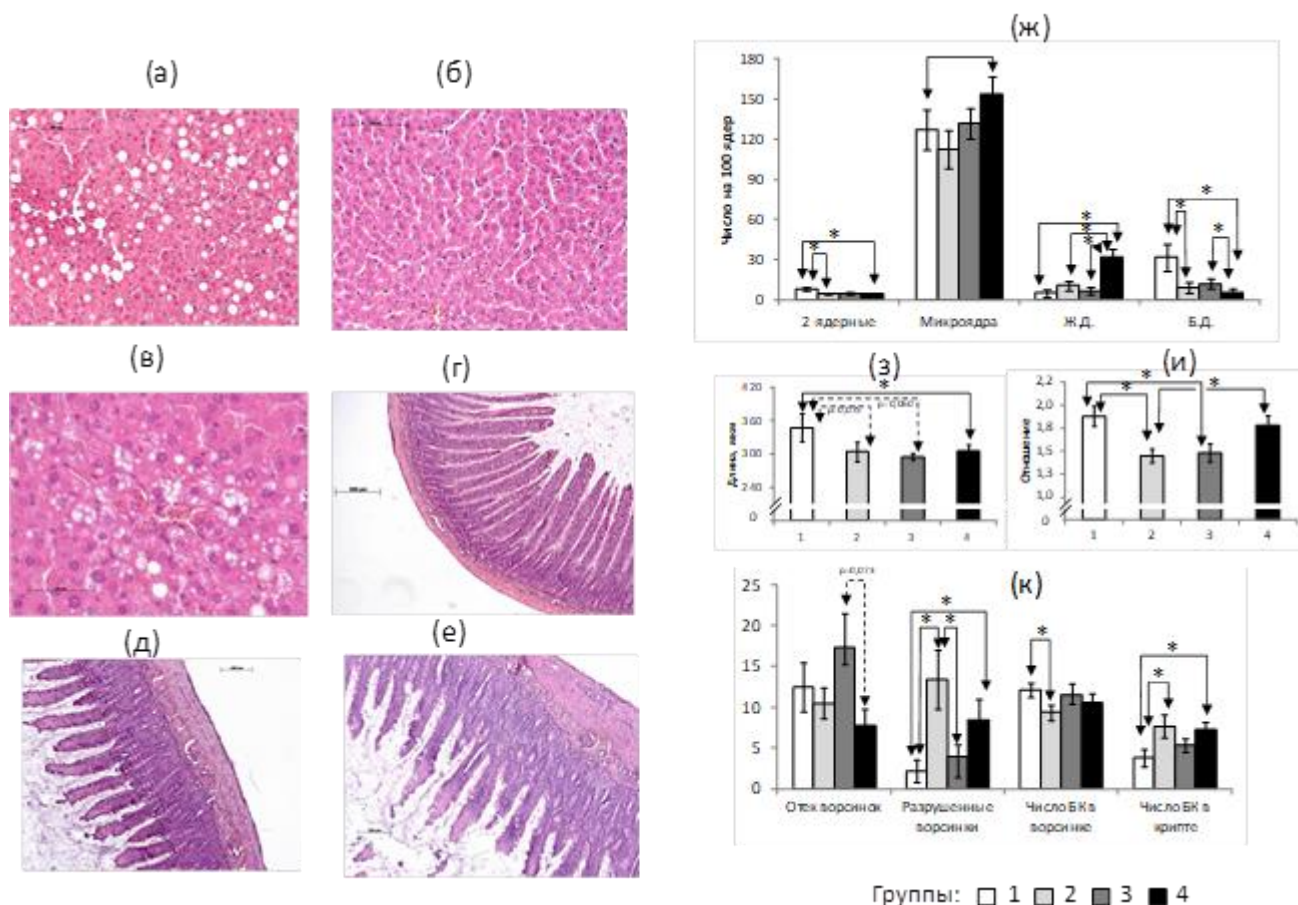


Рис. 2. Морфологические показатели печени и подвздошной кишки крыс: микрофотографии срезов печени крыс из группы 1 (а), 2 (б), 4 (в); стенки подвздошной кишки крыс из групп 1 (г), 2 (д), 3 (е); результаты морфометрии гепатоцитов паренхимы печени (ж); определение длины ворсинок слизистой оболочки подвздошной кишки (з), отношения ворсинка/крипта (и), отека ворсинок, отслойки эпителия и числа бокаловидных клеток в ворсинке и крипте (к). *- см. рис.1. Окраска гематоксилин-эозином, увеличение $\times 50$ (г); $\times 100$ (д,е); $\times 200$ (а,б); $\times 400$ (в). Число проанализированных образов - по 16 в каждой группе

Figure 2. Morphological parameters of the liver and ileum of rats: microphotographs of sections of the liver of rats from groups 1 (a), 2 (b), 4 (c); walls of the ileum of rats from groups 1 (d), 2 (e), 3 (f); results of morphometry of hepatocytes of the liver parenchyma (g); determination of the length of the villi of the ileal mucosa (h), the villus/crypt ratio (i), villous edema, epithelial detachment and the number of goblet cells in the villi and crypt (j). *- see Fig. 1. Hematoxylin-eosin staining, magnification $\times 50$ (g); $\times 100$ (d,f); $\times 200$ (a,b); $\times 400$ (in). The number of analyzed images - 16 in each group

Слизистая оболочка подвздошной кишки крыс контрольной группы характеризовалась хорошо выраженными однородными по длине ворсинками и сравнительно неглубокими криптами (рис.2 г). Для крыс всех трех опытных групп были характерны процессы инволюции ворсинок с уменьшением их длины (рис. 2 д,е,з), наиболее выраженные в группе 4 ($p < 0,05$), увеличение глубины крипт. Ворсинки у этих животных часто имели разную длину и неправильную форму. В группе 3 отмечалась тенденция к росту числа ворсинок с отеком. Отношение ворсинка/крипта было статистически значимо снижено по сравнению с контролем в группах 2 и 3 (рис 2 и). У крыс группы 2 наблюдали наибольшее число случаев слущивания эпителия на вершинах ворсинок, снижение числа бокаловидных клеток в ворсинках при их возрастании в криптах (рис.2 к).

Структура ткани почек и надпочечников на светооптическом уровне не имела особенностей у крыс всех групп. Морфометрический анализ показал (табл.1), что у крыс групп 2 и 4 в почках отмечалась тенденция к возрастанию размеров клубочков и капсул Шумлянско-Боумана, кроме того, в группе 4 клубочки и капсулы приобретали более округлую форму ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). В пучковой зоне коры надпочечников крыс групп 2 и 4 наблюдалось снижение размеров и объемов клеток и их ядер по сравнению с контролем. В мозговом веществе надпочечников у крыс группы 2 и 4 снижался средний размер и объем ядер, а в группе 3 - размер и объем клеток.

Иммунологические и гематологические показатели. В группе 4 отмечались наибольшие изменения по сравнению с другими группами в медианных концентрациях циркулирующих цитокинов сыворотки крови (рис 3 а-г): у них были повышены уровни IL-6 и IFN- γ (различие с группой 3 статистически значимо, $p < 0,05$) и снижался на уровне тенденции IL-17A. При этом содержание FGF-21 было увеличено по сравнению с контролем в группах 2 и 3 ($0,1 > p > 0,05$), но не в группе 4. Различия в содержании остальных изученных цитокинов между опытными группами и по сравнению с контролем практически отсутствовали.

Анализ гематологических показателей (рис.3 д) показал, что в группе 3 возрастала по сравнению с контролем абсолютная численность нейтрофилов и моноцитов, в группе 4 – моноцитов (при снижении количества эозинофилов). В группе 2 наблюдали наибольшее общее содержание базофилов (различие с группой 4 статистически значимо, $p < 0,05$), а в группе 3 – общих лейкоцитов ($p < 0,05$ по сравнению с группами 2 и 4). Количество общих лимфоцитов не различалось между группами ($p < 0,1$). Факторный анализ показал значимое влияние «холода с

физической нагрузкой» на общий лейкоцитоз ($p=0,032$; $F=4,985$; $\eta=0,585$) и нейтрофилы ($p=0,012$; $F=6,906$; $\eta=0,725$); «светового режима» на нейтрофилы ($p=0,008$; $F=7,94$; $\eta=0,783$) и моноциты ($p=0,001$; $F=11,853$; $\eta=0,918$). Комбинация обоих воздействий значимо влияла на количество нейтрофилов ($p=0,022$; $F=5,682$; $\eta=0,642$), эозинофилов ($p=0,009$; $F=7,686$; $\eta=0,77$) и базофилов ($p=0,007$; $F=8,348$; $\eta=0,802$).

Система антиоксидантной защиты. Содержание восстановленного глутатиона печени (рис.4 а) было минимальным в группе 2 ($p<0,05$ по сравнению с группой 4), а активность супероксиддисмутазы печени (рис.4 б), напротив, была значимо повышена в группах 2 и 3 ($p<0,05$ по сравнению с контролем). Содержание каталазы (рис.4 в) в сыворотке крови было резко снижено во всех трех опытных группах (со 2-й по 4-ю), причем в группах 2 и 3 - статистически значимо ($p<0,05$). Вместе с тем экскреция 8 оксо 2 дезоксигуанозина, характеризующего окислительное повреждение ДНК (рис.4 г), была максимальной в группе 3 ($p<0,05$ по сравнению с контролем и с группой 2).

Биохимические показатели. Среди биохимических показателей белкового (азотистого) обмена (табл.2) значимое снижение в сыворотке крови альбумина отмечено у крыс группы 3, креатинина – у группы 4. Отношение активностей АСТ/АЛТ, характеризующее интенсивность катаболизма аминокислот, было повышено по сравнению с контролем в группе 2 на 47% (различие на уровне тенденции, $0,1>p>0,05$). Определение показателей липидного обмена выявило значимое ($p<0,05$ по сравнению с контролем) снижение содержания триглицеридов у крыс группы 4. Уровни холестерина в составе ЛПВП были наибольшими, а индекс атерогенности (ЛПНП/ЛПВП) - наименьшим в группе 2 (различие с контролем на уровне $0,1>p>0,05$). Остальные изученные биохимические показатели сыворотки крови не различались между группами и находились в пределах интервалов нормальных значений.

Таблица 1. Морфометрические показатели почек и надпочечников крыс

Table 1. Morphometric parameters of the kidneys and adrenal glands of rats

Орган	Показатели, ед. изм.		Группы животных***			
			1 (контроль)	2	3	4
Почка	Клубочек	Малая полуось, мкм	63,4±2,2	63,4±2,3	65,3±1,9	68,8±1,6**
		Большая полуось, мкм	93,9±2,8	86,8±2,2**	89,8±2,7	87,9±2,0**
	Капсула	Большая полуось, мкм	138±26	103±3**	107±3	104±2**
	Эллиптичность	Клубочек	1,50±0,06	1,39±0,04	1,39±0,04	1,29±0,05*
		Капсула	1,84±0,43	1,32±0,04	1,37±0,03	1,28±0,04*
Надпочечник	Кора (пучковая зона)	Клетка, малая ось, мкм	8,7±0,3	7,9±0,3**	9,0±0,5	8,3±0,4
		Клетка, большая ось, мкм	12,1±0,3	9,8±0,4*	11,4±0,6	9,7±0,3*
		Ядро, диаметр, мкм	5,8±0,3	4,8±0,3**	5,3±0,5	4,8±0,3*
Орган	Показатели, ед. изм.		Группы животных***			
			1 (контроль)	2	3	4
Надпочечник	Кора (пучковая зона)	Объем клетки, мкм ³	485±25	322±31*	513±99	348±41*
		Объем ядра, мкм ³	106±17	60±12*	83±20	58±9*
	Мозговое вещество	Клетка, малая полуось, мкм	10,0±0,6	9,9±0,2	8,7±0,3†	9,4±0,4
		Клетка, большая полуось, мкм	13,1±0,5	12,9±0,5	10,5±0,4*†	11,5±0,4**
		Ядро, средний диаметр, мкм	6,4±0,2	5,8±0,1*	5,7±0,4	5,4±0,1*
		Объем клетки, мкм ³	728±126	702±65	423±47*†	564±77
		Объем ядра, мкм ³	141±15	100±6**	100±23	83±2*

Примечание: † Различие с группой 2 («холод») статистически значимо, $p < 0,05$; * Различие с группой 1 (контроль) статистически значимо, $p < 0,05$; ** Различие с группой 1 (контроль) при $0,1 > p > 0,05$; *** Число проанализированных образов - по 16 (почки) и по 4 (надпочечники) в каждой группе.

Note: † The difference with group 2 ("cold") is statistically significant, $p < 0.05$; * The difference with group 1 (control) is statistically significant, $p < 0.05$; ** Difference with group 1 (control) at $0.1 > p > 0.05$; *** The number of analyzed images is 16 (kidneys) and 4 (adrenal glands) in each group.

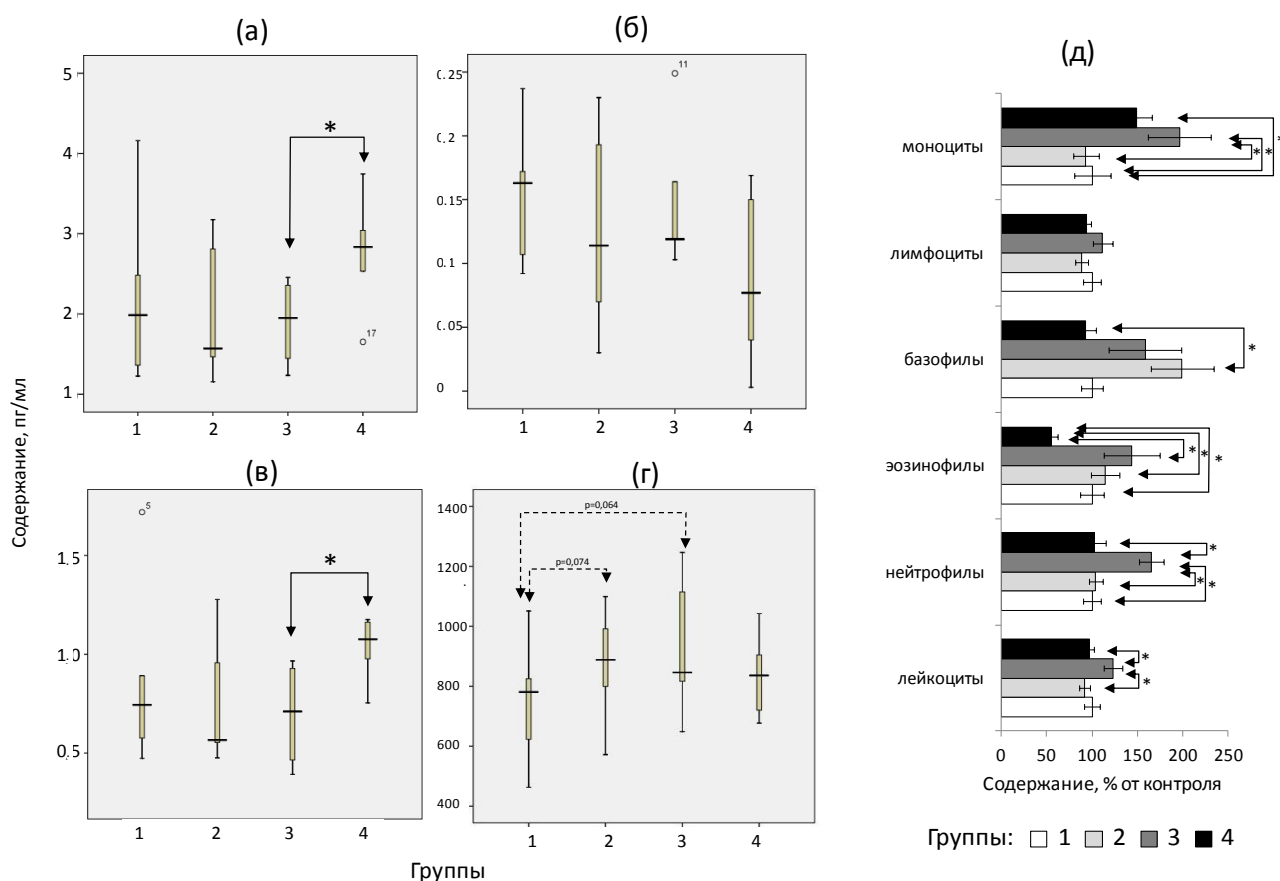


Рис. 3. Иммунологические и гематологические показатели крыс: содержание в сыворотке крови (линия – медиана, бокс – квартильный размах, планки – минимум-максимум) цитокинов IL-6 (а); IL-17A (б), INF-γ (в), FGF-21 (г); содержание в крови лейкоцитов и их отдельных популяций (в % от 1-й контрольной группы, $M \pm s.e.m.$) (д). Число проб в группе - 5(а-г), 10 (д).*- см. рис.1

Fig. 3. Immunological and hematological parameters of rats: serum content (line – median, box – quartile range, bars – minimum-maximum) of IL-6 cytokines (a); IL-17A (b), INF- γ (c), FGF-21 (d); content of leukocytes and their individual populations in the blood (in% of the 1st control group, $M \pm s.e.m.$) (e). The number of samples in the group is 5 (a-d), 10 (e).*- see Fig. 1

Статус гормонов надпочечников и щитовидной железы. Медианные значения экскреции с мочой дофамина (рис. 5 а) были повышены у крыс групп 3 и 4 (различие с контролем на уровне $0,1 > p > 0,05$), а экскреция адреналина (рис. 5 б) была максимальной в группе 3 ($p < 0,05$ по сравнению с группой 2). Экскреция норадреналина (рис. 5 в) значительно не различалась между группами, хотя была отмечена тенденция к ее повышению в группе 3. Для гормона коры надпочечников кортикостерона (рис. 5 г) было характерно значимое снижение в группах 3 и 4 ($p < 0,05$ по сравнению с контролем). Различий между группами животных в

уровнях гормонов щитовидной железы – Т3 и Т4 (рис. 5 г) в сыворотке крови выявлено не было.

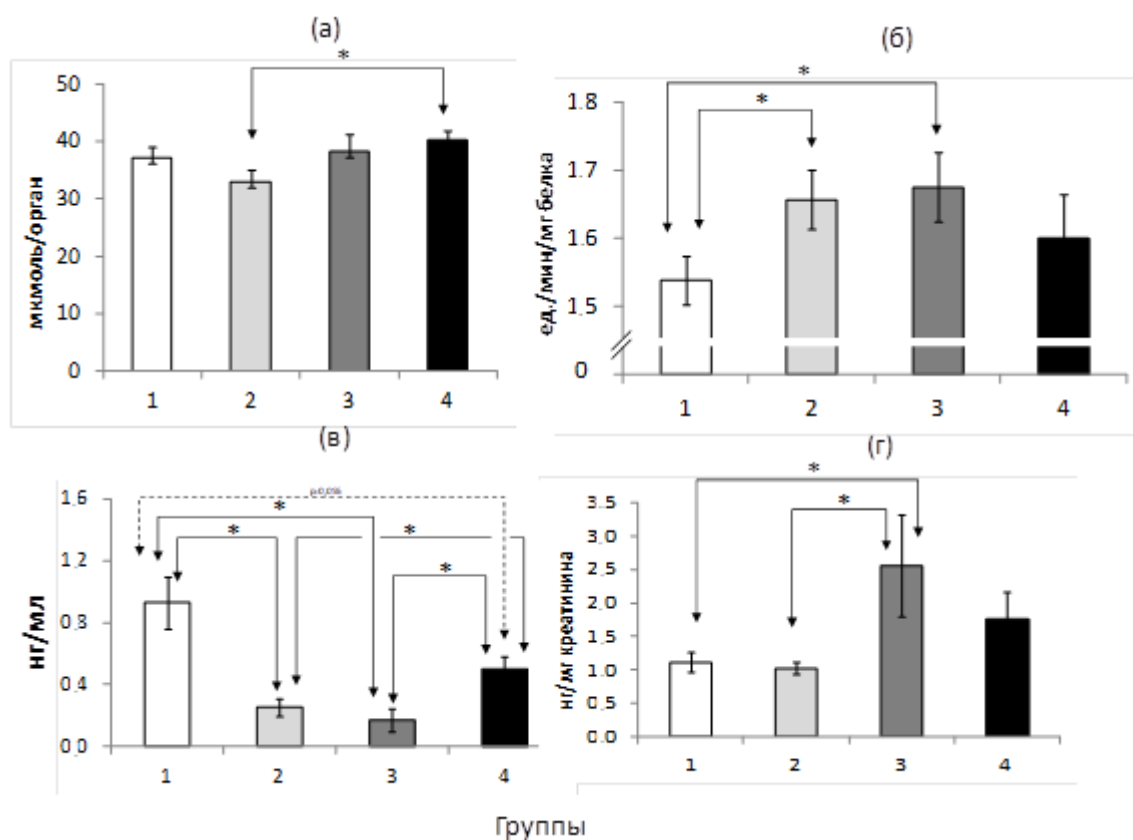


Рис. 4. Показатели окислительного стресса и антиоксидантной защиты организма крыс ($M \pm s.e.m.$): содержание восстановленного глутатиона печени (а); активность супероксиддисмутазы (б), содержание каталазы сыворотки крови (в), экскреция 8-оксо-2-дезоксигуанозина с мочой (г). *- см. рис.1. Число проб в группе - 11 (а, б), 7 (в, г)

Fig. 4. Indicators of oxidative stress and antioxidant defense of the body in rats ($M \pm s.e.m.$): content of reduced liver glutathione (a); superoxide dismutase activity (b), serum catalase content (c), urinary excretion of 8-oxo-2-deoxyguanosine (d). *- see Fig. 1. The number of samples in the group is 11 (a, b), 7 (c, d)

Таблица 2. Биохимические показатели плазмы крови крыс, характеризующие состояние белкового и липидного обмена

Table 2. Biochemical parameters of rat blood plasma characterizing the state of protein and lipid metabolism

Показатели, ед. изм.	Группы животных***			
	1 (контроль)	2	3	4
АСТ/АЛТ (безразмерное)	0,73±0,09	1,07±0,16**	0,97±0,13	0,99±0,13
Альбумин, г/л	35,5±0,5	34,2±0,6	34,0±0,4*	34,5±0,5
Креатинин, мкМ	78,1±6,5	66,1±13,7	66,2±11,8	47,6±5,5*
Триглицериды, мМ	1,51±0,14	1,37±0,15	1,35±0,16	1,19±0,17*
ХС ЛПВП, мМ	0,81±0,05	0,92±0,03**	0,80±0,06	0,81±0,06
ХС ЛПНП, мМ	0,087±0,014	0,068±0,015	0,081±0,013	0,098±0,019
ЛПНП/ЛПВП	0,11±0,02	0,07±0,02**	0,11±0,02	0,12±0,03

Примечание: * Различие с группой 1 (контроль) достоверно, $p < 0,05$; **Различие с группой 1 (контроль) на уровне $0,1 > p > 0,05$; *** Число проб по 11 в каждой группе

Note: * The difference with group 1 (control) is statistically significant, $p < 0.05$;

Difference with group 1 (control) at $0.1 > p > 0.05$; * Number of samples: 11 in each group

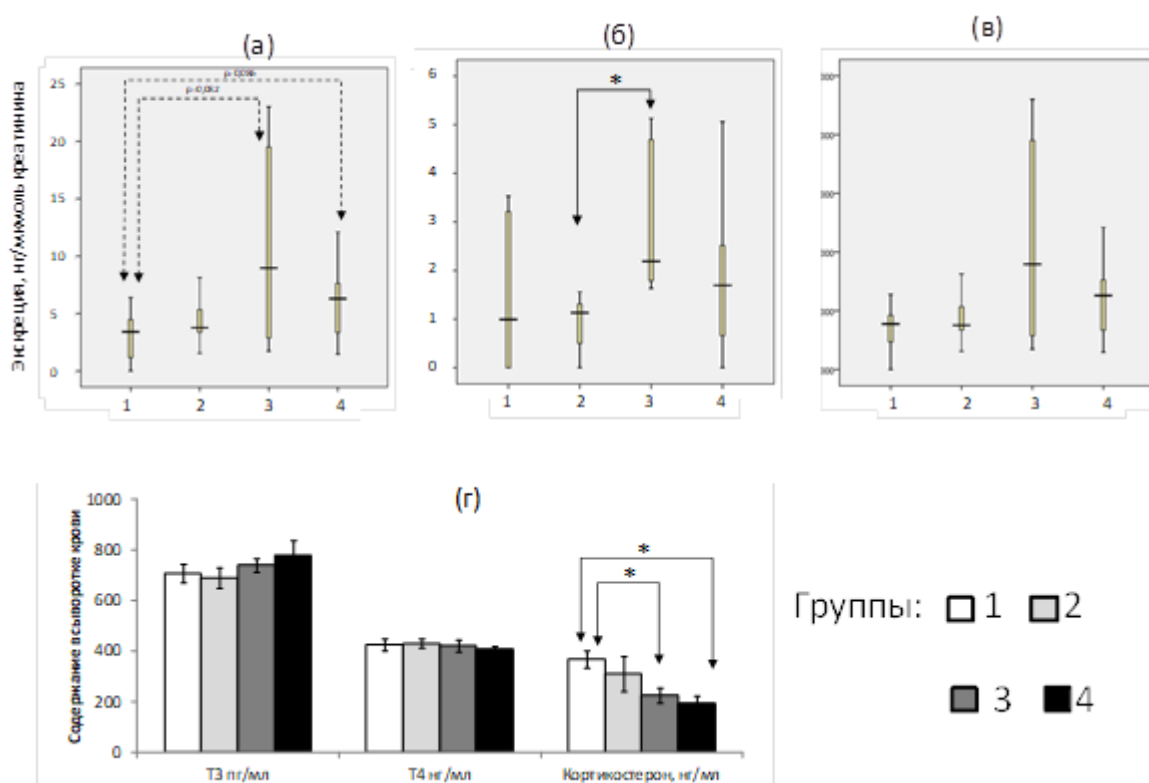


Рис. 5. Показатели гормонального статуса крыс: удельная экскреция с мочой в расчете на количество экскретируемого креатинина (медиана, минимум-максимум, квартильный интервал) дофамина (а), адреналина (б), норадреналина (в); содержание в крови ($M \pm s.e.m.$) трийодтиронина (Т3), тироксина (Т4) и кортикостерона (г). *- см. рис.1. Число проб в группе - 7 (а-в), 10 (г).

Fig. 5. Indicators of the hormonal status of rats: specific urinary excretion based on the amount of excreted creatinine (median, minimum-maximum, quartile range) of dopamine (a), adrenaline (b), norepinephrine (c); blood content ($M \pm s.e.m.$) of triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and corticosterone (g). *- see Fig. 1. The number of samples in the group is 7 (a-c), 10 (d).

Обсуждение результатов

Для достижения валидности разрабатываемой модели желательно, чтобы изменения в состоянии животных находились в потенциально обратимом (физиологическом) диапазоне, что создавало бы возможность коррекции этих нарушений при помощи фактора питания, но не приводило бы к тяжелым органическим нарушениям, включающим повреждение структуры органов сердечно-сосудистой системы, пищеварения и дыхания, глубокий распад мышечных белков, когда сама возможность коррекции с помощью алиментарного фактора становится проблематичной.

В этом отношении, судя по показателям прибавки массы тела, нормальной массе внутренних органов (за исключением массы сердца, тимуса и селезенки в группе 4), отсутствию летальности и анатомических признаков патологии органов при выведении животных из эксперимента, крысы всех групп, по-видимому, адаптировались к налагаемым экстремальным нагрузкам. Это соответствует высокой стрессоустойчивости животных данного вида. Вместе с тем при анализе гистологических показателей и биомаркеров организма крыс были отмечены определенные изменения.

Повышение массы сердца и снижение массы тимуса у животных группы 4 свидетельствует о перенапряжении функции сердечно-сосудистой системы и нарушении определенных звеньев иммунной защиты (предположительно, Т-клеточного звена иммунитета). Последнее согласуется с повышенным содержанием цитокинов IL-6 и INF- γ в сыворотке крови крыс этой группы. Об усилении катаболизма свидетельствует снижение уровня триглицеридов в группе 4, альбумина в группе 3, повышение отношения АСТ/АЛТ и холестерина ЛПВП и снижение отношения ЛПНП/ЛПВП в группе 2, отмена признаков жировой вакуолизации печени в опытных группах. По данным литературы, для воздействия холода на животных характерно состояние гиперкатаболизма, проявляющееся в повышении интенсивности процессов энергетического [16], азотистого [3] и липидного [17] обмена, увеличении продукции дофамина [18], сдвигах в уровнях глюкокортикоидов (кортикостерона у крыс) [19] и тиреоидных гормонов [20]. Различные нарушения в липидном обмене [12], продукции кортикостероидов [21], катехоламинов [22] и гормонов щитовидной железы [23] отмечаются и у животных, находящихся в состоянии измененного светового режима. Из числа указанных показателей в настоящем исследовании не было выявлено изменений в продукции тиреоидных гормонов, что связано, по-видимому, с методическими отличиями от ранее использовавшихся моделей содержания животных при низких температурах воздуха [20] и нарушенном фотопериоде [23] по отдельности.

Для воздействия холода на животных характерны изменения в продукции цитокинов, включая IL-6, IL-17A, INF- γ , FGF-21 и др. [11,24]. В нашем исследовании это нашло отражение в повышенных уровнях FGF-21 во 2-й и 3-ей группах животных, IL-6, INF- γ в 4-й группе. Обнаруженные изменения цитокинов (рис. 2) могут быть отражением механизмов регуляции тканевого ремоделирования (рис. 5) под действием изучаемых стрессовых факторов.

Влияние низких температур окружающей среды и светового режима на гистопатологические характеристики внутренних органов в литературе недостаточно изучено. В работе [25] была установлена связь морфофункционального состояния кишки и состава кишечной микробиоты с нарушенным фотопериодом. В нашей работе были обнаружены выраженные дегенеративные изменения в структуре слизистой оболочки тонкой кишки во всех опытных группах. Статистически значимое снижение у крыс групп 2 и 4 размеров клеток и ядер пучковой зоны коры надпочечников, предположительно, свидетельствует о сокращении их метаболической активности и согласуется со сниженными у этих животных уровнями кортикостерона. Как известно, развитие у крыс стресс-реакции сопровождается в остром опыте (при длительности наблюдения до 4 часов) увеличением продукции кортикостерона [26]. В случае же многократно повторяющегося воздействия подобный эффект может приводить к истощению функциональной активности органа, что, предположительно, можно соотнести с наблюдавшимся снижением уровня кортикостерона и морфологическими изменениями клеток пучковой зоны. Изменения в структуре паренхимы печени не имели такой же однозначной направленности. Отмеченное у крыс группы 4 увеличение числа гепатоцитов с цитоплазматической вакуолизацией указывает на нарушение липидного обмена в печени.

Проведенное исследование показало наличие у животных опытных групп изменений в показателях антиоксидантной защиты и окислительного стресса, что согласуется с данными литературы, полученными при холодовом воздействии [5]. В случае же измененного светового режима эти последствия в литературе описаны недостаточно. Согласно полученным нами данным, факторы, имитирующие воздействие окружающей среды Заполярья, в сочетании, по-видимому, не оказывают аддитивного и тем более синергического влияния на рассматриваемую группу показателей.

Оценивая примененные модели в целом, следует отметить, что погружение в воду температурой 18-20°C находится для мелких животных вблизи границы переносимого диапазона, но вместе с тем является, по-видимому, более физиологическим по сравнению с охлаждением в климатической камере, когда резко возрастает вероятность развития генерализованной морбидности, включая пневмонию. Подход, связанный с погружением животных в холодную воду, широко практикуется [27], в частности при поиске нутриентов с адаптогенным действием [28].

Заключение

Подводя итог проведенному исследованию, необходимо отметить, что всего при использовании трех вариантов модели, основанных на экспонировании крыс холодом с физической нагрузкой, световым режимом и их сочетанием, выявлен ответ в общей сложности 40 показателей состояния организма животных, включая 3 – интегральных, 18 – гистоморфологических, 9 – иммунологических (продукция цитокинов) и гематологических, 4 – эндокринных и 6 – биохимических. Принимая во внимание пилотный характер исследования и ограниченную численность групп животных, нами были учтены как индикаторы, претерпевшие статистически значимые ($p < 0,05$) изменения, так и изменения на уровне тенденции ($p < 0,1$). С учетом этого во 2-й группе крыс отмечено 17 изменений (11 – значимых при $p < 0,05$), в 3-й – 14 (11 – значимых), в 4-й – 25 (19 – значимых). Это показывает, что сочетание холода с физической нагрузкой и световым режимом оказывает в целом наибольшее воздействие на организм экспериментальных животных, не вызывая у них при этом серьезной органической патологии и летальности. Разработанный нами метод хроматографического анализа катехоламинов позволил определять совместно уровни этих ключевых биомаркеров у животных, подвергнутых изученным неблагоприятным воздействиям. Как можно понять из доступных данных литературы, модель, использующая комбинацию охлаждения с измененным фотопериодом, охарактеризована впервые, полученные результаты указывают на перспективы ее использования в доклинических исследованиях специализированных пищевых продуктов и диет адаптогенного действия, предназначенных для питания человека в условиях Заполярья.

Список литературы:

1. Хаснулин В.И. Введение в полярную медицину. Новосибирск: СО РАМН; 1998.
2. Гмошинский И.В., Никитюк Д.Б. Полярный стресс: механизмы и моделирование в эксперименте. Вестник РАМН 2022 Июнь; 77(6): 447–7.
3. Srivastava K.K., Kumar R. Human nutrition in cold and high terrestrial altitudes. *Int. J. Biometeorol.* 1992 Jan; 36(1):10–13.
4. Yang J., Zhang M., Zhou Y. Effects of selenium-enriched *Bacillus* sp. compounds on growth performance, antioxidant status, and lipid parameters breast meat quality of Chinese Huainan partridge chicks in winter cold stress. *Lipids Health Dis.* 2019 Mar; 18(1): 63.
5. Asha Devi S., Manjula K.R., Subramanyam M.V. Protective role of vitamins E and C against oxidative stress caused by intermittent cold exposure in aging rat's frontoparietal cortex. *Neurosci. Lett.* 2012 Nov; 529(2): 155–60.

6. Kalaz E.B., Evran B., Develi-İş S., Vural P., Dogru-Abbasoglu S., Uysal M. Effect of carnosine on prooxidant-antioxidant balance in several tissues of rats exposed to chronic cold plus immobilization stress. *J Pharmacol Sci* 2012; 120(2): 98–104.
7. Pandit C., Sai Latha S., Usha Rani T., Anilakumar K.R. Pepper and cinnamon improve cold induced cognitive impairment via increasing non-shivering thermogenesis; a study. *Int J Hyperthermia* 2018 Sep; 35(1): 518–27.
8. Murad N., Takiuchi K., Lopes A.C., Bonilha A.M., Souza M.M., Demarchi L.M., et al. Coenzyme Q10 exogenous administration attenuates cold stress cardiac injury. *Jpn Heart J.* 2001 May; 42(3): 327–338.
9. Mahoney C.R., Castellani J., Kramer F.M., Young A., Lieberman H.R. Tyrosine supplementation mitigates working memory decrements during cold exposure. *Physiol. Behav.* 2007 Nov; 92(4):575–82.
10. Guo W.J., Lian S., Guo J.R., Zhai J.F., Zhang Y.C., Li Y., et al. Biological function prediction of mir-210 in the liver of acute cold stress rat. *Sheng Li Xue Bao* 2016 Apr; 68(2): 165–70.
11. Liu Y.L., Bi H., Fan R., Li Y.H., Wang Y.M., Chen Y.M., et al. Effect of compound nutrients on acute immobilization and cold water-immersion stress-induced changes of Th1/Th2 cytokines. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2012 Jun; 28(6):601-3.
12. Xie X, Zhao B, Huang L, Shen Q, Ma L, Chen Y, et al. Effects of altered photoperiod on circadian clock and lipid metabolism in rats. *Chronobiol Int* 2017; 34(8):1094–104.
13. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington: The National Academies Press. 2011.
14. Gould T.D., Dao D.T., Kovacsics C.E. The open field test. In: Gould, T. (eds) *Mood and anxiety related phenotypes in mice.* Neuromethods. Humana Press, Totowa, NJ; 2009, Vol 42.
15. Аксенов И.В., Авреньева Л.И., Гусева Г.В., Трусов Н.В., Балакина А.С., Мжельская К.В., и др. Влияние кверцетина на защитный потенциал крыс при повышенном содержании фруктозы в рационе. *Вопросы питания* 2018 Окт; 87(5): 6–12
16. Miyamoto T, Funakami Y, Kawashita E, Tomita S, Nomura A, Sugimoto N, et al. Enhanced hyperthermic responses to lipopolysaccharide in mice exposed to repeated cold stress. *Pharmacology* 2017; 99(3–4): 172–178.
17. Pernes G., Morgan P.K., Huynh K., Mellett N.A., Meikle P.J., Murphy A.J., et al. Characterization of the circulating and tissue-specific alterations to the lipidome in response to moderate and major cold stress in mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2021 Feb; 320(2): R95–R104.
18. Hata T., Kita T., Kamanaka Y., Honda S., Takehi K., Kawabata A., et al. Catecholamine levels in the brain of SART (repeated cold)-stressed rats. *J. Auton Pharmacol.* 1987 Sep; 7(3): 257–66.
19. Tinnikov A.A. Responses of serum corticosterone and corticosteroid-binding globulin to acute and prolonged stress in the rat. *Endocrine* 1999 Oct; 11(2):145–50.
20. Venditti P., Di Stefano L., Di Meo S. Oxidative stress in cold-induced hyperthyroid state. *J. Exp. Biol.* 2010 Sep; 213(Pt 17): 2899–911.
21. Deibel S.H., Hong N.S., Himmler S.M., McDonald R.J. The effects of chronic photoperiod shifting on the physiology of female Long-Evans rats. *Brain Res. Bull.* 2014 Apr; 103: 72–81.
22. Siemann J.K., Williams P., Malik T.N., Jackson C.R., Green N.H., Emeson R.B., et al. Photoperiodic effects on monoamine signaling and gene expression throughout development in the serotonin and dopamine systems. *Sci. Rep.* 2020 Sep; 10(1): 15437.
23. Ross A.W., Helfer G., Russell L., Darras V.M., Morgan P.J. Thyroid hormone signalling genes are regulated by photoperiod in the hypothalamus of F344 rats. *PLoS One* 2011; 6(6): e21351.

24. Eimonte M., Paulauskas H., Daniuseviciute L., Eimantas N., Vitkauskiene A., Dauksaite G., et al. Residual effects of short-term whole-body cold-water immersion on the cytokine profile, white blood cell count, and blood markers of stress. *Int J Hyperthermia* 2021; 38(1): 696–707.
25. Arreaza-Gil V., Escobar-Martínez I., Suárez M., Bravo F.I., Muguerza B., Arola-Arnal A., et al. Gut seasons: photoperiod effects on fecal microbiota in healthy and cafeteria-induced obese Fisher 344 rats. *Nutrients* 2022 Feb; 14(3): 722.
26. Odio M.R., Maickel R.P. Comparative biochemical responses of rats to different stressful stimuli. *Physiol Behav* 1985 Apr; 34(4): 595–9.
27. Zhu P., Zhang Z.H., Huang X.F., Shi Y.C., Khandekar N., Yang H.Q., et al. Cold exposure promotes obesity and impairs glucose homeostasis in mice subjected to a high-fat diet. *Mol. Med. Rep.* 2018 Oct; 18(4): 3923–31.
28. Авакян А.Р., Бровкина И.Л., Лазарев А.И., Утешев Б.С. Иммуномодулирующее действие препаратов жирорастворимых витаминов после интенсивных физических нагрузок, выполняемых при низкой температуре окружающей среды. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия* 2002 Апр; 65(4): 26–9

References:

1. Khasnulin V.I. Introduction to polar medicine. *Novosibirsk: SO RAMN*; 1998. 337 p. (In Russ).
2. Gmoshinskyi I.V., Nikityuk D.B. Polar stress: mechanisms and experimental modeling. *Vestnik RAMN* 2022; 77(6): 447–57. (In Russ).
3. Srivastava K.K., Kumar R. Human nutrition in cold and high terrestrial altitudes. *Int. J. Biometeorol.* 1992 Jan; 36(1):10–13.
4. Yang J., Zhang M., Zhou Y. Effects of selenium-enriched *Bacillus* sp. compounds on growth performance, antioxidant status, and lipid parameters breast meat quality of Chinese Huainan partridge chicks in winter cold stress. *Lipids Health Dis.* 2019 Mar; 18(1): 63.
5. Asha Devi S., Manjula K.R., Subramanyam M.V. Protective role of vitamins E and C against oxidative stress caused by intermittent cold exposure in aging rat's frontoparietal cortex. *Neurosci. Lett.* 2012 Nov; 529(2): 155–60.
6. Kalaz E.B., Evran B., Develi-İş S., Vural P., Dogru-Abbasoglu S., Uysal M. Effect of carnosine on prooxidant-antioxidant balance in several tissues of rats exposed to chronic cold plus immobilization stress. *J Pharmacol Sci* 2012; 120(2): 98–104.
7. Pandit C., Sai Latha S., Usha Rani T., Anilakumar K.R. Pepper and cinnamon improve cold induced cognitive impairment via increasing non-shivering thermogenesis; a study. *Int J Hyperthermia* 2018 Sep; 35(1): 518–27.
8. Murad N., Takiuchi K., Lopes A.C., Bonilha A.M., Souza M.M., Demarchi L.M., et al. Coenzyme Q10 exogenous administration attenuates cold stress cardiac injury. *Jpn Heart J.* 2001 May; 42(3): 327–338.
9. Mahoney C.R., Castellani J., Kramer F.M., Young A., Lieberman H.R. Tyrosine supplementation mitigates working memory decrements during cold exposure. *Physiol. Behav.* 2007 Nov; 92(4):575–82.
10. Guo W.J., Lian S., Guo J.R., Zhai J.F., Zhang Y.C., Li Y., et al. Biological function prediction of mir-210 in the liver of acute cold stress rat. *Sheng Li Xue Bao* 2016 Apr; 68(2): 165–70.
11. Liu Y.L., Bi H., Fan R., Li Y.H., Wang Y.M., Chen Y.M., et al. Effect of compound nutrients on acute immobilization and cold water-immersion stress-induced changes of Th1/Th2 cytokines. *Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi* 2012 Jun; 28(6):601-3.
12. Xie X, Zhao B, Huang L, Shen Q, Ma L, Chen Y, et al. Effects of altered photoperiod on circadian clock and lipid metabolism in rats. *Chronobiol Int* 2017; 34(8):1094–104.

13. Guide for the care and use of laboratory animals. Eighth Edition / Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals; Institute for Laboratory Animal Research (ILAR); Division on Earth and Life Studies (DELS); National Research Council of the national academies. Washington: The National Academies Press. 2011.
14. Gould T.D., Dao D.T., Kovacsics C.E. The open field test. In: Gould, T. (eds) Mood and anxiety related phenotypes in mice. *Neuromethods*. Humana Press, Totowa, NJ; 2009, Vol 42.
15. Aksenov IV, Avrenyeva LI, Guseva GV, Trusov NV, Balakina AS, Mzhelskaya KV, et al. Effect of quercetin on the protective potential of rats at elevated levels fructose in the diet. *Voprosy pitanya*. 2018; 87(5): 6–12. (In Russ).
16. Miyamoto T, Funakami Y, Kawashita E, Tomita S, Nomura A, Sugimoto N, et al. Enhanced hyperthermic responses to lipopolysaccharide in mice exposed to repeated cold stress. *Pharmacology* 2017; 99(3–4): 172–178.
17. Pernes G., Morgan P.K., Huynh K., Mellett N.A., Meikle P.J., Murphy A.J., et al. Characterization of the circulating and tissue-specific alterations to the lipidome in response to moderate and major cold stress in mice. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2021 Feb; 320(2): R95–R104.
18. Hata T., Kita T., Kamanaka Y., Honda S., Kakehi K., Kawabata A., et al. Catecholamine levels in the brain of SART (repeated cold)-stressed rats. *J. Auton Pharmacol.* 1987 Sep; 7(3): 257–66.
19. Tinnikov A.A. Responses of serum corticosterone and corticosteroid-binding glo-bulin to acute and prolonged stress in the rat. *Endocrine* 1999 Oct; 11(2):145–50.
20. Venditti P., Di Stefano L., Di Meo S. Oxidative stress in cold-induced hyperthyroid state. *J. Exp. Biol.* 2010 Sep; 213(Pt 17): 2899–911.
21. Deibel S.H., Hong N.S., Himmler S.M., McDonald R.J. The effects of chronic photoperiod shifting on the physiology of female Long-Evans rats. *Brain Res. Bull.* 2014 Apr; 103: 72–81.
22. Siemann J.K., Williams P., Malik T.N., Jackson C.R., Green N.H., Emeson R.B., et al. Photoperiodic effects on monoamine signaling and gene expression throughout development in the serotonin and dopamine systems. *Sci. Rep.* 2020 Sep; 10(1): 15437.
23. Ross A.W., Helfer G., Russell L., Darras V.M., Morgan P.J. Thyroid hormone signalling genes are regulated by photoperiod in the hypothalamus of F344 rats. *PLoS One* 2011; 6(6): e21351.
24. Eimonte M., Paulauskas H., Daniuseviciute L., Eimantas N., Vitkauskiene A., Dauksaite G., et al. Residual effects of short-term whole-body cold-water immersion on the cytokine profile, white blood cell count, and blood markers of stress. *Int J Hyperthermia* 2021; 38(1): 696–707.
25. Arreaza-Gil V., Escobar-Martínez I., Suárez M., Bravo F.I., Muguera B., Arola-Arnal A., et al. Gut seasons: photoperiod effects on fecal microbiota in healthy and cafeteria-induced obese Fisher 344 rats. *Nutrients* 2022 Feb; 14(3): 722.
26. Odio M.R., Maickel R.P. Comparative biochemical responses of rats to different stressful stimuli. *Physiol Behav* 1985 Apr; 34(4): 595–9.
27. Zhu P., Zhang Z.H., Huang X.F., Shi Y.C., Khandekar N., Yang H.Q., et al. Cold exposure promotes obesity and impairs glucose homeostasis in mice subjected to a high-fat diet. *Mol. Med. Rep.* 2018 Oct; 18(4): 3923–31.
28. Avakyan A.R., Brovkina I.L., Lazarev A.I., Uteshev B.S. Immunomodulatory effect of fat-soluble vitamin preparations after intense physical exertion performed at low ambient temperatures. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimentalnaya terapiya*. 2002; 65(4):26–9. (In Russ).

Поступила/Received: 23.11.2023

Принята в печать/Accepted: 20.12.2023