

**ФАКТОРЫ ИНДИВИДУАЛИЗАЦИИ ЦИРКАДИАННОЙ ДИНАМИКИ
МЕТАБОЛИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПЕЧЕНИ У МОРСКИХ СВИНОК В
УСЛОВИЯХ ОСТРОГО ТОКСИЧЕСКОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ**

Новочадов В.В., Шатыр Ю.А., Кудрявцева Г.А., Мулик А.Б.
ФГАОУ ВПО «Волгоградский государственный университет»,
400062 г. Волгоград, проспект Университетский, 100
тел. (8442) 46-16-39, e-mail: mulikab@mail.ru

Резюме. В условиях острого токсического воздействия (липополисахарид *S. Typhimurium*) определена специфика циркадианной динамики метаболической активности печени у морских свинок обладающих различным уровнем общей неспецифической реактивности организма. Охарактеризована выраженность прироста липидов и продуктов их перекисного окисления, а также степень снижения активности ферментов межучточного обмена в печени после введения бактериального липополисахарида в различное время суток.

Ключевые слова: токсическое воздействие, метаболизм печени, уровень общей неспецифической реактивности организма, циркадианные биоритмы, индивидуализация гомеостаза.

**FACTORS OF CIRCADIAN DYNAMICS INDIVIDUALIZATION OF THE
LIVER METABOLIC ACTIVITY IN GUINEA PIGS UNDER ACUTE TOXIC EFFECTS**

Novochadov V.V., Shatyr Y.A. , Kudryavtseva G.A., Mulik A.B.
Volgograd State University, 400062 Volgograd, Prospect University, 100,
tel. (8442) 46-16-39, e-mail: mulikab@mail.ru

Summary. Under conditions of acute toxic exposure (lipopolysaccharide *S. Typhimurium*) is defined the specificity of circadian dynamics of the liver metabolic activity in guinea pigs with different levels of general non-specific reactivity of the organism. Characterized expression of lipid's growth and products of their peroxidation, as well as the degree of reduction of intermediate metabolism's enzyme activity in the liver after the introduction of bacterial lipopolysaccharide at different times of day.

Keywords: toxic effects, liver metabolism, the level of general non-specific reactivity, circadian biorhythms, individualization of homeostasis.

Введение

Одной из важных задач физиологии является поиск основополагающих факторов индивидуализации гомеостаза организма. Наблюдается актуализация исследований, ставящих под сомнение существование так называемых «стандартных физиологических норм» для большинства адаптационных реакций. Само по себе фундаментальное свойство живого приспосабливаться к изменениям окружающей среды и генетически закреплять эти изменения путем естественного отбора, неизбежно предполагает вариабельность подобных реакций по амплитуде и скорости протекания, а иногда – и по направленности. Одним из ярких примеров подобных различий являются адаптивные изменения в ответ на поступление в организм химических и биологических токсинов, спектр ответов на которые далеко выходит за пределы процессов, традиционно описываемых в медико-биологической литературе как интоксикации [1].

Наличие многочисленных взаимосвязей построенных по принципу иерархического соподчинения от простых к более сложным функциональным системам является основанием для поиска и выделения интегральных критериев, отражающих индивидуальную специфику формирования общих реакций организма на средовые воздействия, что позволяет дифференцировать популяцию на устойчивые конституциональные группы. В результате ранее выполненных собственных исследований, был обоснован подход к определению и свойство интегративности уровня общей неспецифической реактивности организма (УОНРО). Представленное свойство поддается количественной оценке и проявляется в функциональном единстве всех систем организма посредством центрального согласования выраженности и направленности их ответных реакций. В качестве показателя УОНРО используется порог болевой чувствительности, характеризующийся стабильностью индивидуального проявления и обладающий общебиологическими закономерностями внутривидового распределения [2]. Несомненным преимуществом нового критерия является простота, доступность и экспрессность определения, что позволило использовать его для стандартизации традиционных видов лабораторных животных и человека при выполнении медико-биологических исследований [3].

Одним из основополагающих механизмов оперативного формирования ответных реакций на предъявление чрезвычайных экзогенных воздействий являются циркадианные биоритмы, обуславливающие временную выраженность чувствительности и реактивности организма. Соответственно, время воздействия раздражителя будет являться

дополнительным фактором, определяющим качественные и количественные характеристики реакций организма [4].

При анализе возможных объектов исследования, комплексно реагирующих на токсическое воздействие, была выбрана печень. Печень оказывается первым органом-мишенью, на который приходится основной удар токсичных продуктов в виде массивного поступления в кровь воротной вены токсинов, активированных панкреатических и лизосомальных ферментов, биологически активных веществ [5,6].

Важнейшим иницирующим патогенетическим звеном различных заболеваний, в том числе сопровождающихся эндогенной интоксикацией, выступает нарушение обмена липидов различных органов [7,8,9]. К стереотипным реакциям теплокровных животных после экзогенного токсического воздействия относится накопление липидов в печени. Кроме этого, одним из важных элементов коррекции интоксикационных явлений в организме является система перекисного окисления липидов (ПОЛ). Процессы ПОЛ включены в комплексный механизм повреждения мембран клеточных и субклеточных структур различных органов и тканей, в т.ч. и печени [10,11,12,13]. С другой стороны, количество продуктов ПОЛ отражает степень стрессорной активации метаболизма в конкретном органе [14].

Как известно, большинство функций печени, так или иначе, связаны с метаболическим обеспечением жизнедеятельности посредством специфических ферментов. Для исследования было выбрано два фермента межучного обмена: ацилаза, которая вовлечена в обмен белков и аминокислот, и фермент липидного обмена - лецитин: холестерол-ацилтрансферазы (ЛХАТ), который в организме переносит эфирный остаток жирной кислоты с фосфолипидов на холестерин. При помощи этого механизма в печени синтезируются эфиры холестерина, которые затем идут на построение липопротеидов плазмы крови [15].

Цель: выявить специфику метаболической активности печени у морских свинок в зависимости от УОНРО при введении сальмонеллезного липополисахарида в различное время суток.

Материалы и методы

Исследования выполнялись на 60 морских свинках обоего пола, массой от 280 до 460 г, которые содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении. В качестве показателя УОНРО использовался порог болевой чувствительности (ПБЧ). Для оценки ПБЧ применялся метод электрораздражения подошвенной поверхности конечностей через стандартный электролит (0,005 М раствор

хлорида натрия) при свободном размещении животных на контактирующей поверхности электропола. Основой электропола являлась стеклотекстолитовая пластина 30×50 см с поперечно закрепленными на ней медными шинами шириной 6 мм и интервалом 3 мм. Напряжение подавали между соседними токопроводящими шинами через лабораторный автотрансформатор и плавно повышали реостатом от 10 вольт и выше до возникновения реакции устранения конечностей от поверхности электропола. В момент возникновения данной реакции фиксировали напряжение электротока, принимая его за ПБЧ. При этом минимальному ПБЧ (10,1–15,4 В) соответствует высокий УОНРО, среднему (15,5–20,8 В) – средний УОНРО, максимальному ПБЧ (20,9–26,2 В) – низкий УОНРО [16].

Подопытным животным в течение суток с интервалом в 3 ч однократно вводили липополисахарид (ЛПС) *S. Typhimurium* (Sigma, USA) в дозе 0,5 мг/кг массы внутрибрюшинно, что по токсикологической характеристике производителя соответствует LD₁₀. Через 180 минут после введения ЛПС из эксперимента в каждый период времени в группах было подвергнуто биохимическому анализу по 6 гомогенатов печени, в которых определяли содержание липидов, продуктов их перекисного окисления, активность двух ферментов межуточного обмена печени: ацилазы и ЛХАТ.

ПОЛ в гомогенатах печени морских свинок определяли по Л.И. Андреевой с соавт. (1988) [17].

Содержание липидов в тканях печени определяли с помощью готовых наборов фирмы Cavalier Lachema (Чехия).

Активность ферментов межуточного обмена - ацилазы (КФ 3.5.1.14) и ЛХАТ (КФ 2.3.1.43) в тканях печени морских свинок проводили по ранее разработанным методикам [7,18].

Статистическая обработка результатов исследований осуществлялась с использованием программы «Statistica 6.0». Оценку достоверности параметров при нормальном распределении значений проводили с помощью критерия Стьюдента с вероятностью ошибки $p < 0,05$, анализ непараметрических количественных признаков - с помощью критерия Манна-Уитни. Данные на рисунках приведены в виде средней (М) и ошибки средней (m). При оценке достоверности отличий использовалось значение $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Динамика прироста липидов и продуктов их перекисного окисления в печени морских свинок с различным УОНРО представлена в таблице 1.

Таблица 1

Выраженность прироста липидов и продуктов ПОЛ в печени животных с высоким, средним, низким УОНРО после введения ЛПС в различное время суток

Время	Уровень общей неспецифической реактивности организма											
	Высокий (n = 6)				Средний (n = 6)				Низкий (n = 6)			
Относительный прирост содержания липидов, % (M ± m)												
9.00	11,2 ± 0,8				4,3 ± 0,5				- 7,2 ± 0,6			
		12*	H*	C*		12*	B*	H*		12*	B*	C*
12.00	26,2 ± 1,6				19,4 ± 1,1				10,5 ± 0,9			
	9*	15*	H*	C*	9*	15*	B*	H*	9*	15*	B*	C*
15.00	40,9 ± 1,9				36,2 ± 1,7				19,9 ± 1,2			
	12*	21*	H*		12*	18*		H*	12*	18*	B*	C*
18.00	46,3 ± 2,7				44,1 ± 2,3				9,3 ± 0,8			
		21*	H*		15*	21*		H*	15*	21*	B*	C*
21.00	37,5 ± 2,4				30,2 ± 1,4				7,8 ± 0,6			
	18*		H*	C*	18*		B*	H*	18*		B*	C*
Прирост продуктов перекисного окисления липидов, ммоль/л (M ± m)												
9.00	15,25 ± 0,90				14,65 ± 1,03				6,78 ± 0,47			
		12*	H*			15*		H*		12*	B*	C*
12.00	13,71 ± 0,79				13,46 ± 0,94				11,20 ± 0,61			
	9*	21*							9*	15*		
15.00	12,01 ± 0,72				12,69 ± 0,87				16,41 ± 1,15			
	12*	21*	H*		9*			H*	12*	18*	B*	C*
18.00	12,33 ± 0,84				13,43 ± 0,93				9,22 ± 0,64			
	12*	21*	H*					H*	15*	21*	B*	C*
21.00	15,02 ± 1,17				14,25 ± 0,63				7,70 ± 0,43			
	18*		H*					H*	18*		B*	C*

Примечание: n-количество гомогенатов печени; в ячейках под значениями отмечены ближайшие предшествующие и последующие во времени достоверные различия (напр. 9* – p<0,05 со значением в 9.00) и между группами с различным УОНРО (напр. B* – с высоким УОНРО).

Как следует из представленных данных, начиная с утренних часов и до 18.00 включительно, у животных с высоким и средним УОНРО прирост липидов в печени в ответ на введение ЛПС становился все более и более интенсивным, а к 21.00 несколько уменьшался. У морских свинок с низким УОНРО в утренние часы фиксировалось снижение содержания липидов в печени после введения ЛПС. Затем в данной группе происходило увеличение содержания липидов, где акрофаза приходилась на 15.00 с последующим достаточно интенсивным снижением количества липидов. Средние величины прироста липидов в печени у животных с высоким УОНРО составили 32,4%; в

группе со средним УОНРО – 26,8%; в группе с низким УОНРО – 8,1%. Максимальный прирост липидов у животных с высоким и средним УОНРО превышал 40%, у животных с низким УОНРО – был чуть менее 20%.

Прирост содержания продуктов ПОЛ в печени после введения ЛПС у животных с высоким и средним УОНРО имел незначительные колебания в зависимости от времени введения токсина. Разброс амплитуды реакции не превышал в этих группах 20%. Максимальные значения прироста в данных группах животных приходились на утренние и вечерние часы, а батифаза реакции – на 15.00. У животных с низким УОНРО наблюдалась положительная динамика величины исследуемого показателя от 9.00 до 15.00 (акрофаза) с последующим уменьшением до утренних величин. Разброс амплитуды реакции за время измерений составил более 80%. Средние величины прироста продуктов ПОЛ в печени у животных с высоким УОНРО составили 13,66 мкмоль/г ткани; в группе со средним УОНРО – 13,79 мкмоль/г ткани; в группе с низким УОНРО – 10,26 мкмоль/г ткани.

Снижение активности ацилазы в печени при действии бактериального ЛПС составило в среднем в группе с высоким УОНРО 15,5 мкКат/г ткани; в группе животных со средним УОНРО – 14,8 мкКат/г ткани; в группе с низким УОНРО – 7,0 мкКат/г ткани. За период исследования с 9.00 до 21.00 у животных с высоким УОНРО выявлялся постепенный подъем (по модулю) степени снижения активности ацилазы с батифазой в 15.00, после чего сила данной метаболической реакции несколько ослабевала. У животных со средним УОНРО динамика показателя была примерно равной выраженности, но батифаза отмечена в 18.00. У морских свинок с низким УОНРО батифаза приходилась на 15.00, но при сходном характере кривой, ее амплитуда была значительно меньше, в сравнении с группами с высоким или средним УОНРО (табл.2).

Таблица 2

Выраженность снижения активности ферментов межлужечного обмена в печени животных с высоким, средним, низким УОНРО после введения ЛПС в различное время суток

Время	Уровень общей неспецифической реактивности организма											
	Высокий (n = 6)				Средний (n = 6)				Низкий (n = 6)			
Активность ацилазы, мКат/г ткани (M ± m)												
9.00	- 12,3 ± 1,1				- 11,0 ± 1,0				- 5,8 ± 0,5			
		15*	H*			15*		H*		12*	B*	C*
12.00	- 14,1 ± 1,5				- 11,6 ± 1,0				-7,4 ± 0,6			
		15*	H*			15*		H*	9*	15*	B*	C*
15.00	-19,8 ± 2,0				- 18,5 ± 1,7				- 11,8 ± 1,7			

	12*	21*	H*		12*	21*		H*	12*	18*	B*	C*
18.00	- 16,2 ± 1,7				- 11,9 ± 1,8				- 5,2 ± 0,6			
			H*		12*	21*		H*	15*		B*	C*
21.00	- 15,0 ± 1,4				- 13,9 ± 1,4				- 4,6 ± 0,5			
	15*		H*		18*			H*	15*		B*	C*
Активность ЛХАТ, мКат/г ткани (M ± m)												
9.00	- 16,5 ± 1,5				- 14,5 ± 1,2				- 7,8 ± 0,8			
		21*	H*			12*		H*		12*	B*	C*
12.00	- 21,0 ± 2,0				- 19,0 ± 1,8				- 9,2 ± 0,9			
		18*	H*		9*	18*		H*	9*	21*	B*	C*
15.00	- 17,0 ± 1,6				- 16,2 ± 1,5				- 11,0 ± 1,2			
		18*	H*		9*	18*		H*	9*	21*	B*	C*
18.00	- 14,2 ± 1,5				- 11,2 ± 0,9				- 8,6 ± 0,8			
			H*	C*	15*	21*	B*	H*		21*	B*	C*
21.00	- 10,5 ± 1,1				- 8,3 ± 0,7				- 6,3 ± 0,6			
	12*		H*		18*			H*	18*		B*	C*

Примечание: n - количество гомогенатов печени; в ячейках под значениями отмечены ближайшие предшествующие и последующие во времени достоверные различия (напр. 9* – p<0,05 со значением в 9.00) и между группами с различным УОНРО (напр. B* – с высоким УОНРО).

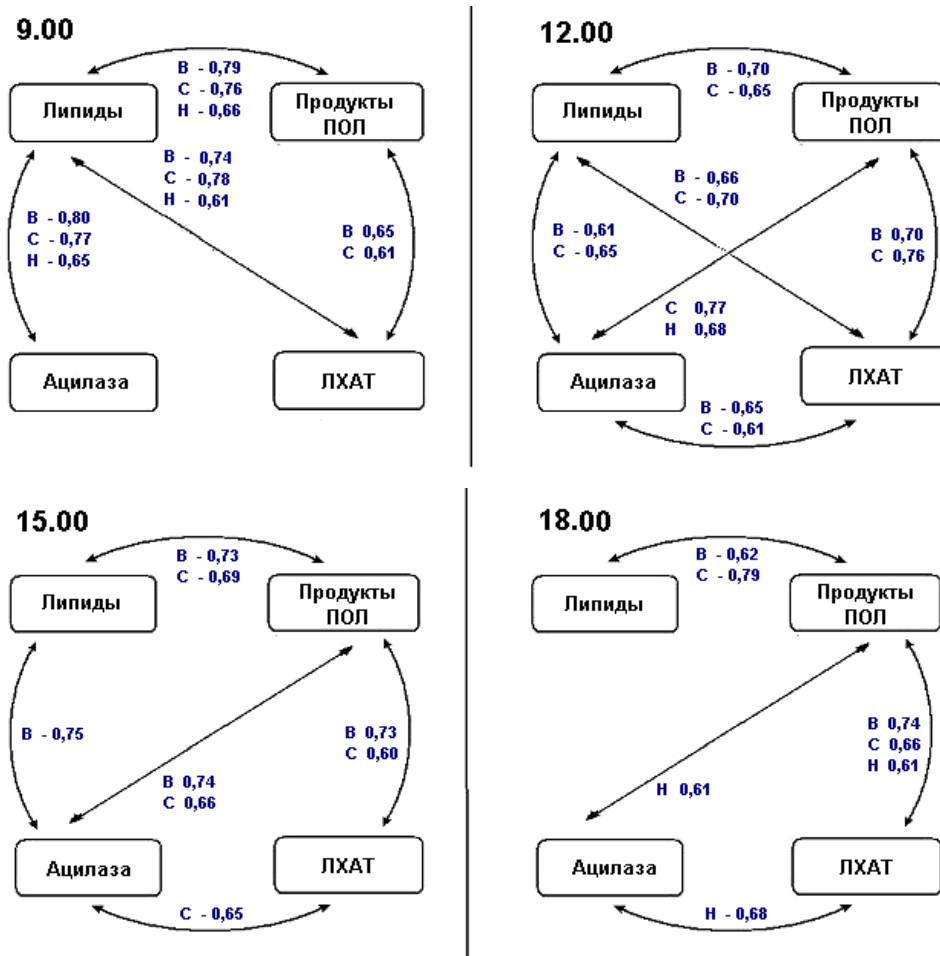
Снижение активности ЛХАТ в печени при действии бактериального ЛПС составило в среднем в группе с высоким УОНРО 15,8 мКат/г ткани; в группе животных со средним УОНРО – 13,8 мКат/г ткани; в группе с низким УОНРО – 8,6 мКат/г ткани. При изучении суточной динамики силы данной реакции у животных с высоким УОНРО выявлялся быстрый утренний подъем (по модулю) степени снижения активности ЛХАТ с батифазой в 12.00, после чего сила данной метаболической реакции значительно ослабевала, акрофаза показателя регистрировалась в 21.00. У животных со средним УОНРО циркадианная динамика показателя была той же, но при несколько меньшей амплитуде силы реакции. У морских свинок с низким УОНРО прирост выраженности реакции снижения активности ЛХАТ в печени происходил несколько медленнее, батифаза отмечена в 15.00, при сходном дальнейшем характере кривой и акрофазой в 21.00.

Результаты корреляционного анализа выявили наличие и динамическое изменение связей между четырьмя исследуемыми метаболическими показателями в печени у животных при введении ЛПС в различное время суток в зависимости от УОНРО (рисунок).

Как следует из представленных данных, при введении ЛПС в утренние часы практически во всех группах выявлялись 4 сильных корреляции: три отрицательные связи между содержанием липидов и остальными показателями, а также между содержанием

продуктов ПОЛ и активностью ЛХАТ (положительная, с величиной r от 0,61 до 0,65). К 12.00 количество и сила корреляций между показателями нарастали, но только у животных с высоким и средним УОНРО, в то время как у животных с низким УОНРО сохранялась единственная достоверная положительная корреляция между содержанием продуктов ПОЛ и активностью ацилазы.

При введении ЛПС в 15.00 корреляции между содержанием продуктов ПОЛ и активностью ацилазы вновь утрачивались, также отсутствовала и ранее сохранявшаяся единственная связь между данными показателями у животных с низким УОНРО. В дальнейшем, к 18.00 во всех группах утрачивалась связь между количеством липидов и активностью ацилазы. Параллельно обнаруживались ранее не имевшиеся взаимные корреляции между содержанием продуктов ПОЛ, активностью ЛХАТ и ацилазы у животных с низким УОНРО. При введении ЛПС в 21.00 имелась отчетливая тенденция к увеличению числа корреляционных связей между показателями метаболизма в тканях печени, большее количество связей выявлялось у животных с низким УОНРО.



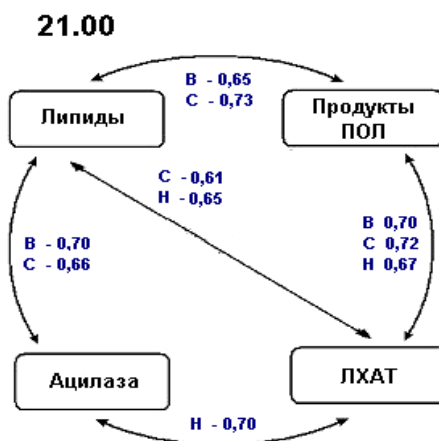


Рис. Результаты корреляционного анализа отдельных показателей метаболизма печени при введении ЛПС в различное время суток в зависимости от УОНРО. Показаны только связи, достоверные в статистическом отношении при $p < 0,05$.

Заключение

В результате выполненного исследования выявлен ряд принципиальных моментов в организации циркадианной динамики метаболизма печени у морских свинок в ответной реакции на острое токсическое воздействие.

После введения бактериального ЛПС зарегистрирована стереотипная реакция в виде аккумуляции липидов и накопления продуктов ПОЛ в печени, но выраженность этих процессов зависела от времени введения ЛПС и УОНРО лабораторных животных. Максимальные значения и амплитуда суточных колебаний реакций были выше у животных с высоким УОНРО, минимальной – у животных с низким УОНРО. Акрофазы реакции прироста липидов в этой группе животных регистрировались раньше, чем у морских свинок с высоким и средним УОНРО (15.00 против 18.00), а прироста продуктов ПОЛ – позже (15.00 против 12.00, соответственно). Данные особенности полностью согласуются с результатами ранее выполненных исследований циркадианной динамики фонового метаболизма печени при различном УОНРО [19].

Активность ацилазы обладала существенной циркадианной динамикой, причем у животных с высоким и средним УОНРО пик активности приходился на период с 12.00 до 15.00, в то время как у животных с низким УОНРО амплитуда колебаний была менее выражена, а акрофаза приходилась на 18.00. Подобные различия можно объяснить особенностью животных с низким УОНРО, у которых было зафиксировано смещение

общей активности метаболизма на вечерние и ночные часы. У этих животных вовлеченность ацилазы печени в метаболические процессы нарастает с 12.00 до 18.00, тогда как у животных с высоким и средним УОНРО она в тот момент уже снижается.

При исследовании ЛХАТ было выявлено, что у животных с высоким УОНРО активности данного показателя вдвое превышает таковую у животных с низким УОНРО. Акрофазы активности ЛХАТ (по модулю снижения) приходились у животных с высоким УОНРО на 18.00, у животных с низким УОНРО – на 15.00.

При корреляционном анализе исследуемого набора показателей было определено несколько важных закономерностей. Прежде всего, количество и силы связей в утренние и дневные часы в основном преобладали у животных с высоким и средним УОНРО, а обилие связей у животных с низким УОНРО мы фиксировали, начиная с 15.00. Связи между активностью ацилазы и ЛХАТ начинают устанавливаться у животных с высоким и средним УОНРО, начиная с 12.00 (с низким УОНРО – с 15.00), а в утренний период отсутствуют. В максимальный период интенсивности метаболизма между 12.00 и 15.00 выявляется множество новых связей: между содержанием липидов и активностью ЛХАТ; содержанием ПОЛ и активностью ацилазы; ПОЛ и ЛХАТ. Большинство этих связей положительны, однако между активностями ферментов межуточного обмена в тканях печени имеются отрицательные корреляции. Данные закономерности могут быть обусловлены тем, что при участии в различных видах обмена, представленные элементы метаболизма имеют частичную конкуренцию за субстраты, а также конкуренцию в регуляции интенсивности энергетического обмена.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что в условиях воздействия бактериального ЛПС адаптационная перестройка в печени животных происходит в условиях динамического формирования и разобщения связей между отдельными метаболическими процессами. Эти сложные процессы имеют циркадианный характер, и зависят от УОНРО.

Список литературы

1. Меркушкина И. В. Терапия метаболических расстройств головного мозга при эндогенной интоксикации / И. В. Меркушкина // Вестник интенсивной терапии. – 2007. – № 5. – С. 113-115.

2. Мулик А. Б. Биометрическая характеристика болевой чувствительности организма / А. Б. Мулик., Ю. А. Шатыр, М. В. Постнова // Сенсорные системы - Т.27 - №1 -С. 60-67
3. Мулик А. Б.. Оптимизация медико-биологического эксперимента in vivo / А.Б.Мулик.- Волгоград: Изд-во ВИЭСПа, 2003-212 с.
4. Ракитин А. М. Состояние перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма собак при атопическом отите. / А. М. Ракитин // Современные проблемы и пути их решения в науке, транспорте, производстве и образовании -2012. - № 2- С. 56-61
5. Калашникова С. А.. Тиреоидная модуляция ФНО-зависимого апоптоза и формирование хронической патологии печени при эндогенной интоксикации у крыс / С. А. Калашникова , В. В .Новочадов , А. Н. Горячев, А. И. Щеголев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2009. – Т. 147, №2. – С. 201 - 206.
6. Власов А. П. Системный липидный дистресс-синдром в хирургии // А. П. Власов, В. А. Трофимов, В. Г. Крылов. – М.: Наука, 2009. – 224 с
7. Новочадов В. В.. Эндотоксикоз: моделирование и органопатология. / В. В. Новочадов, В. Б. Писарев – Волгоград: Изд-во ВолГМУ, 2005. – 240 с.
8. Bass J.. Circadian integration of metabolism and energetics / J. Bass, J. S. Takahashi // Science. – 2010. – N330 (6009). – P. 1349-1354
9. Bray M.S.. 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. 286. – P. 11883 – 11889.
10. Asher G.. Crosstalk between components of circadian and metabolic cycles in mammals / G. Asher, U. Schibler // Cell Metab. - 2011. – Vol. 13. – P. 125 – 137.
11. Huang W.. Circadian rhythms, sleep, and metabolism / W. Huang, K.M. Ramsey, B. Marcheva, J. Bass // J. Clin. Invest. - 2011. - Vol. 121, №6. - P. 2133 – 2214.
12. Time of feeding and the intrinsic circadian clock drive rhythms in hepatic gene expression / C. Vollmers, S. Gill, L. DiTacchio, S. R. Pulivarthy, H. D. Le et al. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 2009. – Vol. 106. – P. 21453–21458.
13. Doi R.. Clock regulates circadian rhythms of hepatic glycogen synthesis through transcriptional activation of Gys2 / R. Doi, K. Oishi, N. Ishida // J. Biol. Chem. 2010. – Vol. 285. № 29. – P. 22114–2121.

14. Абдуллаев А. И. Сравнительная оценка влияния сочетанного применения озонированного перфторана и глутоксима на процессы перекисного окисления липидов и эндогенной интоксикации при распространенных перитонитах. / А. И. Абдуллаев // Украинский журнал хирургии -№ 4 - 2013 .- С. 97 - 106
15. Dallmann R.. The human circadian metabolome / R. Dallmann, A. U. Viola, L. Tarokh et al. // PNAS – 2012. - N7. – P.109.
16. Мулик А. Б.. Универсальный метод определения порога болевой чувствительности у традиционных видов лабораторных животных / А. Б. Мулик, Ю. А. Шатыр //Российский журнал боли- 2012.- №2 — С.7 - 10.
17. Андреева Л. И.. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л. И. Андреева, Л. А. Кожемякин, А. А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 11. – С. 41 – 44
18. Новочадов В. В.. Способ определения токсичности химических веществ./ В. В. Новочадов, В. Б.Писарев, В. И. Фролов.; Патент РФ на изобретение №2265851/2005.
19. Типологические особенности циркадианной организации интегральных показателей функционального состояния организма и метаболизма печени у морских свинок / Г. А. Кудрявцева, В. В. Новочадов, М. В. Постнова , Ю. А. Шатыр , А. Б. Мулик // Фундаментальные исследования - 2013. – №1 — С.292 - 298