

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра физиологии человека и животных

**ВЛИЯНИЕ ДЕПРИВАЦИИ СНА НА КЛИРЕНС МЕТАБОЛИТОВ
МОЗГА**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 2 курса 243 группы
Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология
Биологического факультета
Лысенко Анастасии Александровны

Научный руководитель

к.б.н., доцент

_____ Е.И. Саранцева
(подпись, дата)

Зав. кафедрой человека и животных,

д.б.н., доцент

_____ О. В. Семячкина – Глушковская
(подпись, дата)

Саратов2026

Введение. Старение организма сопровождается рядом физиологических изменений, среди которых наиболее значимыми являются процессы, затрагивающие центральную нервную систему. Несмотря на выявление особенностей старения в нейронных сетях головного мозга, точные молекулярные механизмы, ответственные за это, все еще неясны. По мнению нейрофизиологов для старения характерно снижение консолидации сна и бодрствования, что сопровождается нарушением когнитивных функций. В настоящее время накоплено достаточно данных о взаимосвязи расстройств сна и когнитивных расстройств. Нарушение сна, как клиническое проявление заболевания наиболее часто выявляют при болезни Альцгеймера, болезни Паркинсона, болезни с диффузными тельцами Леви. Когнитивный дефицит, проявляющийся нарушением памяти, внимания и способности решать проблемы, становятся важными вопросами для общественного здравоохранения, выявить причины. Затраты мирового рынка на 2025 год составили около 61,93 млрд. долларов США. Согласно прогнозу, к 2035 году цифра увеличится до 121,30 млрд. долларов США, демонстрируя среднегодовой темп роста в 7,1% [1].

По оценкам Всемирной организации здравоохранения, в 2021 году нейродегенеративными заболеваниями страдали около 57 миллионов человек, на 2025 год цифры увеличились до 80 миллионов человек, и ожидается, что к 2050 году это число увеличится до 139 миллионов. В России на 2025 год число больных нейродегенеративными заболеваниями составило около 2 миллионов человек, по прогнозам уровень заболеваемости может превысить в России эпидемиологический порог в 5% населения страны к 2050 году [2]. Развитие многих нейродегенеративных заболеваний связано с возрастом, поэтому по мере увеличения продолжительности жизни количество заболевших будет расти.

Важность изучения факторов, влияющих на развитие и прогрессирование возрастных когнитивных нарушений, очевидна, поскольку современные методы лечения часто оказываются неэффективными либо

имеют серьезные побочные эффекты. Растущее число пожилых людей с когнитивными нарушениями во всем мире и отсутствие эффективных фармакологических методов без серьезных побочных эффектов требуют разработки немедикаментозных стратегий.

Одним из новых направлений в терапии возрастных когнитивных расстройств является применение фототерапии – метода, основанного на воздействии света определенной длины волны на ткани организма [3,4]. Известно, что световая энергия стимулирует митохондриальную активность клеток, улучшает кровообращение и ускоряет регенерационные процессы. В частности, использование низкочастотного лазерного излучения или светодиодной фототерапии показывает позитивные результаты в экспериментальных исследованиях на животных моделях болезней Альцгеймера и Паркинсона. Фотобиомодуляция (ФБМ) является многообещающим методом профилактики ранних или умеренных возрастных когнитивных нарушений, который в дальнейшем можно использовать в клинической медицине.

Поэтому целью данной работы явилось изучение депривации сна на клиренс метаболитов мозга и терапевтический эффект транскраниальной фотобиомодуляции воздействия на ткани мозга у старых мышей.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

1. Оценить возрастные изменения в дренаже головного мозга и способность к выведению метаболитов.
2. Определить влияние острой и хронической депривации сна на дренаж мозга у мышей разного возраста.
3. Оценить терапевтический эффект фототерапии на клиренс молекул и расстройства, вызванные депривацией сна.

Магистерская работа включает содержание, список сокращений и обозначений, введение, 3 главы (обзор литературы, материалы и методы, результаты исследований), выводы и список использованных источников, включающий 87 источников на русском и английском языках. Работа

изложена на 64 страницах машинописного текста. Работа проиллюстрирована 10 рисунками.

Основное содержание работы. Во всех экспериментах использовали мышей-самцов C57BL/6 (3-12-24-месячного возраста, массой 25-28-35 г, соответственно), полученных из Национального центра лабораторных животных в Пущино (Московская область, Россия). Выбор возраста мышей связан с оценкой эффективности ФБМ у молодых (3 месяца), средних (12 месяцев) и старых (24 месяца) мышей.

Эксперименты проводились в следующих группах: (1-3) – контрольная, включающая интактных мышей в возрасте 3-12-24 месяцев без острой депривации сна (ОДС) или хронической депривации сна (ХДС), а также без ФБМ; контрольные группы (4-6) с установленной светодиодной платформой и электродами ЭЭГ на результаты. И мыши в возрасте 3-12-24 месяцев со светодиодной головной пластиной и электродами для ЭЭГ без ФБМ и депривации сна. (7-9) мыши с ОДС в возрасте 3-12-24 месяцев, т.е. после острой депривации сна; (10-12) мыши с ХДС в возрасте 3-12-24 месяцев, т.е. после хронической депривации сна; (13-15) мыши с ХДС в возрасте 3-12-24 месяцев получали параллельно 10-дневный курс ФБМ + бодрствование; (16-18) мыши с ХДС в возрасте 3-12-24 месяцев получали параллельно 10-дневный курс ФБМ + сон; n=8 в каждой группе на всех сеансах экспериментов; (19) не подвергавшиеся анестезии и свободно передвигавшиеся 24-летние мыши, которые были адаптированы и включены в мониторинг воздействия ФБМ в режиме реального времени во время сна и бодрствования на дренаж головного мозга с использованием 2-фотонной визуализации на 1, 3 и 5-й дни наблюдения за одной и той же мышью (n=5); (20-22) 24-месячные мыши, которые были включены в конфокальный анализ дренажа головного мозга *ex vivo* без и после ФБМ + бодрствования и ФБМ + сна, n=5 в каждой группе.

В ходе экспериментального исследования также использовались: стереотаксический держатель; держатель Гамильтона и игла 29-G Hamilton;

полиэтиленовый катетер (PE-10, внутренний диаметр 0,28 мм × наружный диаметр 0,61 мм, Scientific Commodities Inc., Лейк-Хавасу-Сити, Аризона, США); монохромная камера Basler acA2040 – 2090 мкм (Аренсбург, Германия) и объектив для видеонаблюдения с креплением 50 мм 2,8 С (Tamron, Япония); линза с подставкой для ручного переноса (Standa, Литва); ползунок с наборами фильтров (49019, 49002, Chroma Technology, США); конденсаторы со светодиодами мощностью 1 Вт (635 нм для 49019 и 460 нм для 49002); большая клетка (300 × 180 × 150 мм) с небольшим индивидуальным боксом (150 × 100 × 50 мм) для сна; импульсный лазер Spectraphysics Insight X3 (длина волны возбуждения 970 нм); светодиод 3835 SMD (центральная длина волны 1050 нм и ширина спектра 50 нм); микроконтроллер; цилиндрические магниты (3мм – диаметр и высота); стальная шайба M3 со светодиодной рамкой; Конфокальный микроскоп LEICA TCS SP8 (Leica Microsystems, Вецлар, Германия) с линзой × 20 (0,75 NA) или линзой × 100 для погружения в масло (0,45 NA). Вертикальный конфокальный микроскоп Nikon A1R MP (корпорация Nikon, Токио, Япония) с CFI Plan Apochromat Lambda D 2X (корпорация Nikon, Токио, Япония), установленный в фокусирующем окуляре. Спектрофотометр UV-3600 с интегрирующей сферой LISR-3100 (Shimadzu, Япония). Вибротом Leica VT1000 S (Leica Microsystems, Вецлар, Германия). Дозатор гранул для выдачи 12-мг поощрительных гранул (семена подсолнечника, Grums, Минск, Беларусь); флуоресцеин изотиоцианата (FITC)-декстрана (FITCD, Sigma, Сент-Луис, США); DAPI (синий), Alexa Fluor 488 (зеленый); Alexa Fluor 555 (оранжевый) Evans Blue (Sigma Chemical Co., Сент-Луис, Миссури, 2 мг/вес тела, 1% раствор в 0,9% физиологическом растворе).

Возрастные изменения в дренаже головного мозга и уровнях β -амилоида в мозге: влияние ФБМ на выведение β -амилоида. Чтобы проверить эффективность лимфатической регуляции дренажа мозга, был изучен уровень растворимого β -амилоида в мозге мышей разного возраста до и после ФБМ. Результаты исследования показали возрастное снижение

дренажа мозга. Так распределение FITCD в вентральных и дорсальных областях мозга у 12-месячных мышей был ниже в 2,5 раза и в 1,5 раза соответственно. У 24-месячных мышей – в 6,2 раза и в 2,5 раза по сравнению с 3-месячными мышами. Подобная тенденция отмечалась и в случае с ГШЛУ: интенсивность сигнала от FITCD здесь была в 13 раз ниже у мышей среднего возраста (12 месяцев) и в 17 раз – у старых мышей по сравнению с молодыми особями.

Одновременно с этим была проведена двухфотонная визуализация интенсивности клиренса FITCD из правого бокового желудочка и его распределения в периваскулярных пространствах (ПВП) через оптическое окно у мышей без анестезии. Мониторинг распределения FITCD в ПВП без фотостимуляции, во время сна (FITCD вводили через катетер в момент записи ЭЭГ сна NREM) или бодрствования, проводили на той же мыши с той же областью изучения на первый, третий и пятый дни исследований, когда FITCD полностью удаляли из ПВП.

Результаты *ex vivo* были аналогичны данным *in vivo* и выявили значительное накопление FITCD в глубоких шейных лимфоузлах только в группе FITCD с ФБМ + сном, в то время как в группе FITCD без ФБМ или FITCD с ФБМ + бодрствование уровень красителя был минимальным и не отличался друг от друга.

Возрастное угнетение механизмов очищения мозга создает условия для накопления метаболитов. Стало ясно, что ФБМ во время сна, но не во время бодрствования, увеличивает дренаж мозга, то есть увеличивает движение мозговых жидкостей через глимфатическую систему и/или лимфатические пути, способствующие лучшему удалению соединений, растворенных в жидкостях головного мозга, на периферию.

Влияние острой и хронической депривации сна на дренаж мозга у мышей разного возраста

Дренаж мозга, который активируется во время сна, играет ключевую роль в удалении метаболитов из тканей мозга вместе с потоком жидкости.

Поэтому на следующих этапах исследования изучалось влияние ОДС и ХДС на дренаж мозга и содержание метаболитов в мозге. Кроме того, были проанализированы уровни типичных метаболитов в мозге до и после ХДС + 10-дневного курса ФБМ (бодрствования или сна) у мышей разного возраста.

Дренаж головного мозга был значительно снижен у 24-месячных мышей по сравнению с 3-месячными мышами (в 2,2 раза, $p < 0,001$ и в 2,7 раза, $p < 0,001$ в вентральной и дорсальной частях мозга; в 1,8 раза, $p < 0,001$ в ГШЛУ) и 12-месячных мышей (в 1,7 раза, $p < 0,01$ и в 0,6 раза, $p < 0,01$ в вентральной и дорсальной частях головного мозга, в 1,5 раза, $p < 0,001$ в ГШЛУ). Не было выявлено различий в дренаже головного мозга у мышей в возрасте 3 и 12 месяцев.

Хроническая депривация сна, но не острая депривация сна, подавляла дренаж головного мозга в зависимости от возраста. После ХДС дренаж головного мозга был снижен у 24-месячных мышей на 7,8 и на 5,6 в вентральной и дорсальной частях мозга; у 12-месячных мышей в 3,5 раза и в 2,2 раза; у 3-месячных мышей в 1,7 раз. В глубоких шейных лимфатических узлах в 2 раза во всех группах. Следует отметить, что ОДС не влияла на дренаж мозга у мышей разного возраста.

Влияние транскраниальной фотобиомодуляции на дренаж мозга и когнитивные функции у старых мышей

Была проведена оценка эффективности фотобиомодуляции во время сна. Рисунки 9 а-в наглядно демонстрируют, что 10-дневный курс ФБМ + сон, но не ФБМ + бодрствование, был связан с повышением дренажа уровня β -амилоида как в головном мозге, так и в мозговых оболочках у 24-месячных мышей. Цикл ФБМ + бодрствование не влиял на уровни $A\beta$ в головном мозге и мозговых оболочках старых мышей.

Аналогичные результаты были получены при изучении влияния фототерапии на улучшение когнитивных функций у 24-месячных мышей. Результаты павловских испытаний на выносливость ясно показывают, что в группе, получавшей ФБМ + сон, по сравнению с контрольной группой

количество тренировок сократилось в 1,2 раза , а количество вознаграждений увеличилось в 1,7 раза , что указывает на положительное влияние ФБМ + сон на организм. Однако цикл ФБМ + бодрствование не влияли на обучение 24-месячных мышей.

Таким образом, результаты этой серии экспериментов подтвердили гипотезу о том, что сон усиливает стимулирующее воздействие ФБМ на выведение β -амилоида и когнитивные функции у старых мышей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Эксперименты по депривации сна показали, что хроническая депривация приводит к значительному подавлению мозгового дренажа, сопровождающегося накоплением метаболитов мозга, таких как А β у мышей всех возрастов. Также наблюдалось значительное подавление мозгового дренажа у старых мышей по сравнению с молодыми и мышами среднего возраста.

Фотобиомодуляция является эффективным методом предотвращения чрезмерного накопления метаболитов в мозге, вызванного хронической депривацией сна. Однако, у пожилых мышей только фотостимуляция во время сна оказывала эффективное стимулирующее воздействие на дренаж мозга и клиренс молекул. В отличие от старых мышей, у молодых и животных среднего возраста фототерапия как во время сна, так и бодрствования эффективны для поддержания уровня метаболитов в мозге в пределах нормы. Таким образом, результаты позволяют предположить, что поддержание функциональности менингеальных лимфатических сосудов критически важно для достижения положительного эффекта от фотобиостимулирующих процедур как в отношении удаления А β , так и улучшения когнитивной деятельности. Тем не менее, данные эффекты наблюдаются в меньшей степени у пожилых особей, проявляющих резистентность к воздействию фотостимуляции. Это может быть связано со структурными изменениями лимфатических сосудов, что свидетельствует о снижении лимфообращения.

Полученные данные открывают новые возможности для разработки методов профилактики и терапии нейродегенеративных заболеваний, связанных с нарушением циркуляции церебрального ликвора и накоплением токсичных белков, обеспечивая фундаментальную основу для последующих клинических испытаний и практического внедрения технологий ФБМ в геронтологической практике.

ВЫВОДЫ

1. Возрастные изменения механизмов очищения мозга у старых мышей снижают его способности к клиренсу метаболитов, тогда как фотобиомодуляция во время сна увеличивает движение мозговых жидкостей через лимфатические пути. Так распределение FITCD в вентральных и дорсальных областях мозга у 24-месячных мышей был ниже в 6,2 раза и в 2,5 раза по сравнению с 3-месячными мышами. Подобная тенденция отмечалась и в случае с глубокими шейными лимфатическими узлами.

2. Влияние депривации сна на дренаж головного мозга и выведение метаболитов является возраст-зависимым процессом. В отличие от острой депривации сна, которая не оказывает существенного воздействия на эти процессы, хроническая подавляет способность мозга к очищению и выведению метаболитов. После хронической депривации дренаж головного мозга был снижен у 24-месячных мышей на 7,8 и на 5,6 в вентральной и дорсальной частях мозга; у 12-месячных мышей в 3,5 раза и в 2,2 раза; у 3-месячных мышей в 1,7 раза. В глубоких шейных лимфатических узлах в 2 раза во всех группах.

3. Сон усиливает стимулирующее воздействие фототерапии на выведение β -амилоида и когнитивные функции у старых мышей. Результаты павловских испытаний ясно показывают, что в группе, получавшей фотобиомодуляцию во сне, по сравнению с контрольной группой количество тренировок сократилось в 1,2 раза, а количество вознаграждений увеличилось в 1,7 раза, что указывает на положительное влияние фототерапии во время сна.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1 Economic Burden of Alzheimer's Disease: A Systematic Review / Lyn Xuan Tay [et al.] // Value in Health Regional Issues. – 2024. – N. 40. – P. 1-12.

2 World health statistics 2025: monitoring health for the SDGs, Sustainable Development Goals Geneva: World Health Organization; 2025. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO [Электронный ресурс]: www.who.int (дата обращения: 16.09.2025). Загл. с экрана.

4 Семячкина-Глушковская, О. В. Фотостимуляция лимфатического вывода β -амилоида из мозга мыши: новая стратегия терапии болезни Альцгеймера / О. В. Семячкина-Глушковская, Е. И. Саранцева, Т. Д. Искра // Естественные науки. – 2024. – № 3. – С. 4-20.