

А.В. Разыграев, К.И. Таборская, К.Ю. Воловик, А.А. Бунина, М.А. Петросян

АКТИВНОСТЬ МОНОАМИНОКСИДАЗЫ В ШИШКОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЕ КРЫС: СРАВНЕНИЕ СО СТРУКТУРАМИ МОЗГА, ВОЗРАСТНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ

*ФГБНУ «Научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и репродуктологии имени Д.О. Отта», 199034 Санкт-Петербург, Менделеевская линия, 3;
e-mail: alexeyrh@mail.ru*

Изучены уровни активности моноаминоксидазы (МАО) в шишковидной железе (эпифизе) крыс с использованием бензиламина в качестве субстрата. По уровню активности, дезаминирующей бензиламин, проведено сравнение эпифиза со структурами мозга и гипофизом. По активности МАО в эпифизах также сравнены между собой две возрастные группы крыс — 6-8 мес и 14-15 мес. Бензиламин-дезаминирующая активность в эпифизе была статистически значимо выше, чем в медиальной преоптической области, маммилярном теле, обонятельных бугорках и гипофизе, и ниже, чем в срединном возвышении гипоталамуса. Активность МАО в эпифизах 14-15-месячных крыс значимо выше, чем у животных возраста 6-8 мес. Активность МАО в эпифизах крыс полностью ингибируется R-депренилом в концентрации 0,002 мМ, что указывает на ее принадлежность моноаминоксидазе В-типа. Возрастное изменение активности МАО противоположно изменению глутатионпероксидазной активности, выявленному ранее в эпифизах крыс, что может способствовать усилению окислительных процессов в шишковидной железе при старении.

Ключевые слова: бензиламин, бензальдегид, депренил, эпифиз, старение, ферменты.

Это препринт материалов, принятых к публикации в журнале «Успехи геронтологии» (2015). Статья подготовлена к печати с выходными данными: Разыграев А.В., Таборская К.И., Воловик К.Ю., Бунина А.А., Петросян М.А. Активность моноаминоксидазы в шишковидной железе крыс: сравнение со структурами мозга, возрастные изменения // Успехи геронтологии. 2015. Т. 28. № 4. С. 674-680

A.V. Razygraev, K.I. Taborskaya, K.Yu. Volovik, A.A. Bunina, M.A. Petrosyan

MONOAMINE OXIDASE ACTIVITY IN RAT PINEAL GLAND: COMPARISON WITH BRAIN AREAS, ALTERATION DURING AGING

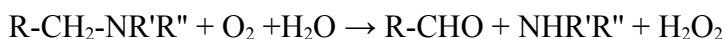
FSBSI «The Research Institute of Obstetrics, Gynecology and Reproductology named after D.O. Ott», 3, Mendeleevskaya liniya, Saint Petersburg 199034, Russia; e-mail: alexeyrh@mail.ru

Using benzylamine as a substrate, the amine oxidase activity was determined in the pineal gland of adult rats and compared with the same activity in brain areas and pituitary. Two groups of rats aged 6-8 and 14-15 months were also compared with each other on the basis of this activity. Benzylamine deaminating activity in the pineal gland was significantly higher than in the *area preoptica medialis*, the *corpus mamillare*, the *tuberculum olfactorium*, and the *hypophysis*, and lower than in the *eminetia mediana*. The significant increase of the activity in the pineal gland from 6-8- to 14-15-months age was revealed. Benzylamine deaminating activity in the pineal gland was totally inhibited by 0.002 mM R-deprenyl, indicating the B-type monoamine oxidase (MAO B) activity. Age-associated increase of MAO B activity in the pineal gland accompanied by decrease of glutathione peroxidase activity, reported earlier, can promote the oxidative damage in the pineal gland during aging.

Keywords: benzylamine, benzaldehyde, deprenyl, epiphysis, aging, enzymes.

Известно, что старение сопровождается снижением активности многих ферментов в различных органах и тканях. Исключением является моноаминоксидаза (МАО) типа В (МАО В). Было обнаружено, что активность и содержание этого фермента, который, как считается, окисляет преимущественно дофамин *in vivo*, возрастают в головном мозге млекопитающих в процессе старения. В то же время обнаружено, что активность другой формы моноаминоксидазы, МАО типа А, не меняется или меняется незначительно [22].

Реакция, катализируемая МАО обоих типов, протекает по схеме [11]:



(R' = Н либо CH₃, R'' = Н либо CH₃)

Одним из продуктов реакции является пероксид водорода (H₂O₂) - соединение, способное вызывать окислительные модификации биомолекул. Известно, что в мозге и других органах происходит усиление окислительных процессов в случае, если возрастает активность МАО [31]. Следовательно, существует соответствие между повышением активности МАО В, увеличением окислительного стресса и развитием функциональной инволюции органов и тканей в процессе старения.

В контексте исследований, направленных на выяснение биохимических изменений, сопровождающих процесс старения организма, особенно интересны данные о функционировании шишковидной железы (эпифиза). В ткани эпифиза содержание и активность МАО, в частности, ее отдельных изоформ, изучались ранее с применением гисто- и цитохимических методов [19; 24]. Также имеются данные о возрастных изменениях активности МАО, определенной с использованием кинурамина [7], из которых с определенной вероятностью следует, что общая активность МАО в эпифизе крыс увеличивается в процессе старения.

Сродство изоформ МАО к разным лигандам (субстратам и ингибиторам) различается [26]. В нормальных физиологических условиях общим субстратом для МАО А и МАО В является дофамин. Среди других биологических моноаминов субстраты обеих изоформ – тирамин, октопамин, триптамин [15]. Также существуют общие для обеих изоформ субстраты-ксенобиотики и искусственные субстраты (кинурамин) [30]. Среди физиологических субстратов МАО А – серотонин (5-гидрокситриптамин) и норадреналин. Субстратами для МАО В являются 2-фенилэтиламин (следовой амин, обнаруживаемый *in vivo*), н-пентиламин, бензиламин [15, 30]. Некоторые субстраты являются общими для МАО А и/или МАО В и нефлавиновых аминоксидаз [26, 30]: например, нефлавиновая семикарбазидчувствительная аминоксидаза (САО) метаболизирует дофамин, тирамин, кинурамин, серотонин (САО пульпы зуба), 2-фенилэтиламин, н-пентиламин, бензиламин [30]. Производные 2-пропинамина являются специфическими ингибиторами отдельных изоферментов МАО в определенных диапазонах концентраций [3, 11]. Так, хлоргиллин в низких концентрациях избирательно тормозит активность МАО А, а при увеличении концентрации инактивирует также и МАО В. Депренил инактивирует МАО В в низких концентрациях. При повышении концентрации также ингибируется МАО А [11].

Ввиду этого, во-первых, представляют интерес новые, повторные исследования с использованием различных моноаминовых субстратов. Во-вторых, важны исследования с применением специфичного ингибирования в сочетании с использованием относительно специфичных субстратов, что повышает информативность результатов в отношении исследуемой ферментативной активности.

Отметим, что данные об уровнях активности, выявленных с применением разнообразных субстратов и ингибиторов, позволяют выбрать наиболее подходящую

методику для последующей работы с той или иной анатомической структурой. Распределение аминоксидазных активностей среди различных структур головного мозга изучалось с использованием разнообразных методик [6; 11], но при этом мало данных, на основании которых можно сопоставить уровни активности MAO в эпифизе с аналогичными активностями в других структурах [7].

В настоящем исследовании были поставлены задачи: 1) определить уровни активности MAO в эпифизах крыс с использованием бензиламина в качестве субстрата и провести сравнение уровней активности между эпифизами и структурами мозга тех же животных 2) сравнить крыс среднего возраста со стареющими крысами по активности MAO в эпифизе с обоснованием принадлежности данной активности определенной форме фермента.

Материалы и методы

Животные.

Для исследования возрастных изменений активности MAO использовали самцов крыс линии «Вистар» среднего возраста и стареющих (6-8 и 14-15 месяцев, соответственно), по 7 животных в группе. Для сравнения уровней ферментативной активности между эпифизом и структурами мозга использовали половозрелых самцов (вес 440-510 г): 4 животных в группе при исследовании 7 анатомических структур. Необходимое количество животных определялось, исходя из разрешающей способности статистических методов сравнения групп. Животные были получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово» РАМН» и содержались в регламентированных условиях вивария ФГБНУ «НИИАГиР им. Д.О.Отта» при соблюдении всех правил содержания лабораторных животных (время и порядок проведения карантина, маркировка всех особей, постоянный санитарный контроль, стандартный рацион питания, свободный доступ к воде и пище, автоматический режим освещения 12 часов света : 12 часов темноты) при полном исключении отрицательных воздействий. Возрастные изменения активности MAO исследовались на потомстве полученных крыс, рожденном и выращенном в вышеописанных условиях.

Реактивы.

Бензиламин (гидрохлорид), R-депренил - «Sigma» (США); K_2HPO_4 , NaOH, сахароза, трихлорметан - «Вектон» (Россия).

Предварительная подготовка биоматериала, идентификация структур.

Крыс декапитировали во второй половине дневной фазы суток после предварительной наркотизации трихлорметаном. Эпифиз, головной мозг и гипофиз после извлечения замораживали при -85°C и хранили при той же температуре. Предварительная заморозка ткани до гомогенизации, как было установлено при выполнении предыдущих исследований [6, 7], является необходимым условием для последующего определения моноаминоксидазной активности, если не планируется использовать детергент для солюбилизации фермента.

Идентификация структур мозга осуществлялась с использованием атласа головного мозга крыс [23]. Использовались те же структуры, в которых ранее исследовалась кинураминоксидазная активность [6, 7]. Иссечение обонятельных бугорков (билатерально) проводили в соответствии с описанием в работе [8]. Для иссечения структур, частично или полностью располагающихся в глубине мозга, так же, как в работе [8], использовали трансверзальные разрезы. При этом медиальная преоптическая область (*area preoptica medialis*) гипоталамуса выделялась в виде участка треугольной формы,

заключенного между двумя разрезами, проходящими через оптическую хиазму. Дорсальное ядро шва (*nucleus raphe dorsalis*) выделялось посредством разреза, проходящего через акведукт, с последующим извлечением участка ткани вентрально от акведукта в его каудальной части поблизости от мозжечка. Срединное возвышение (*eminentia mediana*) с окружающей тканью и маммилярное тело (*corpus mamillare*) выделяли в точности как описано в работах [6, 7]. Используемые анатомические структуры и области мозга хорошо определяются в замороженной ткани, и для их правильного иссечения не требуется каких-либо дополнительных способов идентификации.

Выделенные структуры гомогенизировали в 0.25 М растворе сахарозы, приготовленном на К-Na-фосфатном буфере (рН 8.0) с использованием стеклянного гомогенизатора. Гомогенаты объемом 40-100 мкл центрифугировали при 1000 g в течение 10 минут; супернатант использовали для определения ферментативной активности.

Определение моноаминоксидазной активности с использованием бензиламина.

Метод, впервые описанный С. W. Tabog и соавторами [28], был использован с предварительной проверкой параметров и модификацией. Реакционные смеси (общий объем – 1.125 мл) состояли из раствора бензиламина в К-Na-фосфатном буфере (рН 8.0) и супернатанта гомогената ткани. Концентрация бензиламина — 3.7 мМ, за исключением предварительного исследования, в котором был использован ряд концентраций. Реакционные смеси инкубировали при 37°C в индивидуальных кварцевых кюветах (одна кювета на один образец). Прирост оптической плотности регистрировали с помощью спектрофотометра Beckman DU-65 при длине волны 250 нм. Периодические измерения позволяли наблюдать постоянство скорости реакции. Каждое измерение проводилось сразу после недолгого, тщательного перемешивания. В предварительном исследовании, чтобы подтвердить превращение бензиламина в бензальдегид (наличие бензиламин:O₂-оксидоредуктазной активности), проводилось измерение оптической плотности при различных длинах волн в диапазоне 240-260 нм в начале и конце инкубации, после чего начальный спектр вычитался из конечного. То, что активность целиком принадлежит MAO В проверялось с использованием R-депренила, селективного ингибитора MAO В. Его концентрация в реакционной смеси составляла 2 мМ; данная концентрация использовалась ранее в наших исследованиях активности MAO в тканях крыс с использованием кинуранина в качестве субстрата [6].

Результаты определения ферментативной активности выражались в единицах [12, 28] относительно концентрации белка в реакционной смеси. Одна единица была определена как количество фермента в 1 мл, обуславливающее повышение оптической плотности реакционной смеси на 0.001 за 1 минуту при 250 нм (вследствие катализа окисления бензиламина в бензальдегид). Концентрация белка в реакционной смеси была определена с применением упрощенного турбидиметрического метода [9, 32] с использованием трихлоруксусной кислоты и регистрацией оптической плотности при 500 нм [6].

Статистика.

Поскольку закон распределения изучаемых характеристик не может быть надежно определен на малочисленных выборках, результаты представлялись в виде первичных данных, а также медиан и процентилей (Me [33.3%—66.7%]), что помогло избежать искажения информации о выборках и необоснованного представления данных как подчиняющихся нормальному закону [2, 4, 18]. При этом выбранные процентиля в точности соответствуют определенным вариантам в выборке при n=7. Соответственно, уровни активности сравнивались с использованием непараметрических критериев. Для

сравнения эпифиза с другими анатомическими структурами тех же животных использовали критерий Фридмана; *post hoc* сравнения были проведены с использованием критерия Ньюмена-Кейлса. Критерий Манна-Уитни-Уилкоксона был использован для сравнения двух независимых выборок, сделанных на основе возраста крыс. Для оценки вероятности ошибки I рода использовались как табличные значения из работы [2], так и расчет точных значений в программной среде R (версия 2.13.1) [25].

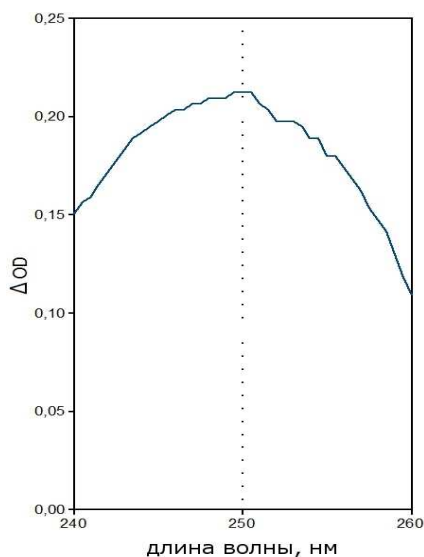


Рис. 1. Спектр изменения оптической плотности реакционной смеси, содержащей гомогенат эпифиза и бензиламин. ΔOD – разница в оптической плотности реакционной смеси (результат вычитания начального спектра из конечного). Максимальный прирост оптической плотности наблюдался при 250 ± 0.5 нм, что подтверждает превращение бензиламина в бензальдегид.

Результаты и обсуждение

Предварительное исследование изменения спектра оптической плотности реакционной смеси, содержащей супернатант гомогената эпифиза и бензиламин, подтвердило превращение бензиламина в бензальдегид: максимальное изменение оптической плотности приходится на длину волны 250 ± 0.5 нм (Рис. 1), результат соответствует данным из работы [28]. Предварительная минимальная оценка кинетических характеристик ферментативной реакции в присутствии супернатанта гомогената эпифиза при различных концентрациях бензиламина дает значение K_m по данному субстрату, приблизительно равное 0.16 мМ, из чего следует, что концентрация 3.7 мМ является «насыщающей».

Уровень бензиламин:O₂-оксидоредуктазной активности в эпифизе выше, чем в большинстве других исследованных структур (Табл. 1 и 2). Распределение уровней данной активности в структурах мозга и гипофизе крыс сходно с результатами предыдущего исследования, в котором использовался кинурамин в качестве субстрата: наивысший уровень активности был в срединном возвышении, а наименьший – в гипофизе [6]. В срединном возвышении, сильно васкуляризованной области гипоталамуса, высокая аминоксидазная активность, по-видимому, выполняет барьерную функцию, препятствуя дальнейшему проникновению потенциально токсичных аминов из кровотока в нервную ткань [11]. Также именно для срединного возвышения гипоталамуса

крыс характерна необычно высокая концентрация тирамина [17]. Можно предполагать, что высокая аминоксидазная активность в данной анатомической структуре необходима для регуляции его уровня.

Таблица 1

Распределение бензиламин-дезаминирующей активности (выражена в единицах на 1 мг белка) в анатомических структурах крыс

Номер животного	Анатомическая структура						
	<i>E.m.</i>	<i>Pin.</i>	<i>D.r.</i>	<i>A.p.</i>	<i>C.m.</i>	<i>Tub.</i>	<i>Pit.</i>
1	107.2	56.7	45.5	32.0	22.9	31.5	5.2
2	132.9	53.5	43.5	52.0	46.0	24.0	5.4
3	146.7	59.7	45.5	44.7	75.1	35.0	9.1
4	160.0	61.1	24.1	39.8	35.5	30.0	5.8
медиана	139.8	58.2	44.5	42.3	40.8	30.8	5.6

Обозначения (здесь и в таблице 2): *A.p.* – медиальная преоптическая область, *C.m.* – маммилярное тело, *D.r.* – дорсальное ядро шва, *E.m.* – срединное возвышение (с прилегающей тканью), *Pin.* – эпифиз, *Pit.* – гипофиз, *Tub.* – обонятельные бугорки.

Таблица 2

Уровни значимости (от 1 до 5%), на которых нулевая гипотеза о случайном характере различий в бензиламин-дезаминирующей активности между анатомическими структурами отвергается как ложная (*post hoc* сравнения критерием Ньюмена-Кейлса)

	<i>E.m.</i>	<i>Pin.</i>	<i>D.r.</i>	<i>A.p.</i>	<i>C.m.</i>	<i>Tub.</i>
<i>Pin.</i>	0.05					
<i>D.r.</i>	0.05	-				
<i>A.p.</i>	0.01	0.01	-			
<i>C.m.</i>	0.01	0.05	-	-		
<i>Tub.</i>	0.01	0.05	0.05	-	-	
<i>Pit.</i>	0.01	0.01	0.01	0.05	0.01	0.01

Примечание: прочерк в ячейке таблицы означает $p > 0.05$.

Бензиламин: O_2 -оксидоредуктазная активность (ед./мг белка, Ме [33.3%—66.7%]) в эпифизах крыс возраста 14-15 месяцев выше, чем у 6-8 месячных крыс: 48.32 [45.52—65.78] и 40.81 [33.85—40.94], соответственно (рис. 2). Хотя медианы различаются умеренно, диапазоны значений *min*—*max* очень различны и с небольшим перекрытием (41.33—94.38 и 20.30—50.23, соответственно), что в совокупности дает различия на высоком уровне значимости (вероятность ошибки I рода составляет 0.01748). R-депренил полностью блокировал ферментативную активность в эпифизах животных обеих возрастных групп. Это подтверждает то, что регистрируемая активность полностью принадлежит MAO B без какого-либо возможного вклада других аминоксидаз, которые тоже способны окислять бензиламин [30].

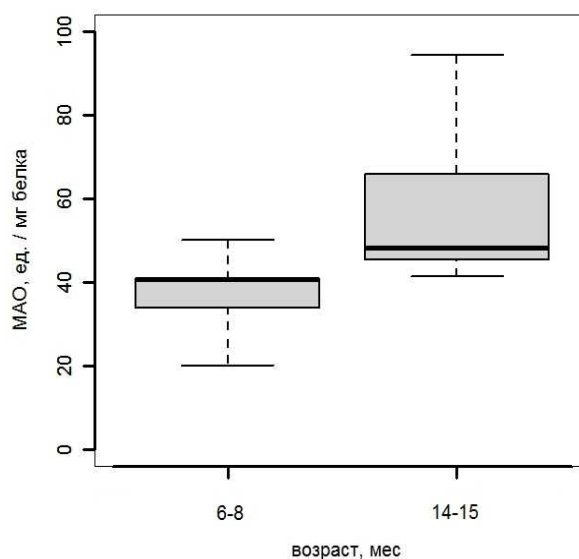


Рис 2. Активность MAO B в эпифизе самцов крыс возраста 6-8 и 14-15 месяцев. Жирная линия внутри бокса обозначает медиану. Нижняя и верхняя границы бокса — 33,3 и 66,7 процентиля. «Усы» - наименьшее и наибольшее значения в группе. Различия между двумя группами статистически значимы ($p < 0.02$, критерий Манна-Уитни-Уилкоксона).

Существование высокого, хорошо определяемого уровня активности MAO B в эпифизе крыс предполагает важную роль этого фермента в данном органе. Ввиду того, что преобладающим субстратом MAO B *in vivo* служит дофамин, следует рассмотреть функцию дофамина в эпифизе. В функцию шишковидной железы входит перевод сигнала об уровне освещенности, поступающего от сетчатки, в гуморальный сигнал, распространяющийся по всему организму. Гуморальный сигнал реализуется в виде продукции и секреции мелатонина эпифизом, и этот процесс носит циклический, циркадианный характер [14]. Проведённые ранее исследования указывали на то, что дофамин в шишковидной железе может быть нейротрансмиттером; при этом его содержание в железе проявляет циркадианную ритмичность с максимумом в ночное время [20, 27]. Недавно был прояснен механизм, по которому дофамин модулирует продукцию и высвобождение мелатонина [14]. У крыс норадреналин является основным нейротрансмиттером, опосредующим контроль метаболической активности эпифиза со стороны главного циркадианного осциллятора - супрахиазматических ядер гипоталамуса. В ночные часы секреция норадреналина из терминалей нейронов, проецирующихся в эпифиз, приблизительно в 100 раз выше, чем в дневное время; данный трансммиттер оказывает активирующее действие на продукцию мелатонина железой [27]. Норадреналин выполняет свою регуляторную функцию, связываясь со своими рецепторами на мембранах пинеалоцитов. Рецепторы норадреналина способны формировать гетеромеры с D4-рецепторами дофамина. Когда дофамин связывается со своими рецепторами, при наличии гетеромеров происходит ингибирование эффектов норадреналина, и продукция мелатонина шишковидной железой снижается [14].

Следовало бы ожидать участие MAO B в регуляции уровня дофамина в эпифизе и, соответственно, в регуляции его эффекта на продукцию мелатонина. С использованием цитохимических методов ранее было показано, что в эпифизе крыс и других животных MAO A локализована преимущественно в норадренэргических нервных окончаниях, в то

время как MAO В найдена в пинеалоцитах [19, 24]. Эти факты говорят о локализации дофамина и MAO В отдельно друг от друга, и пути их взаимодействия не ясны. Если дофамин действительно подвергается метаболизму посредством MAO В в эпифизе, то обнаруженное в настоящем исследовании увеличение активности MAO В при старении может быть причиной сниженных уровней дофамина в эпифизах в ночное время у стареющих крыс по сравнению с более молодыми животными [20]. Сниженные уровни дофамина, в свою очередь, должны выразиться в менее выраженной терминации пика мелатонина и, в целом, в ослаблении ритмичной картины продукции этого гормона при старении.

Ингибиторы MAO, в частности, MAO В, являются эффективными средствами в терапии ряда заболеваний нервной системы, в том числе развивающихся и/или усугубляющихся при старении [26]. Более того, имеются данные о способности ингибитора MAO В (депренила) временно восстанавливать репродуктивную цикличность у стареющих крыс [29]. У самок крыс репродуктивная цикличность находится в зависимости от режима освещения, при этом секреция гонадотропинов гипофиза приурочена к определенному времени суток [1, 13]. Экзогенный мелатонин оказывает нормализующее действие на секрецию гонадотропинов у стареющих самок крыс и, по-видимому, на их эстральные циклы [13]. Можно предполагать, что в механизм восстановления репродуктивной цикличности под действием ингибитора MAO В включается не только его влияние на структуры мозга, контролирующие репродукцию, но и на метаболические процессы в эпифизе, связанные с продукцией мелатонина. В связи с этим в дальнейшем представляет интерес изучение влияния ингибиторов MAO на синтез и секрецию мелатонина шишковидной железой. Известно, что у пожилых людей снижается амплитуда ритма содержания мелатонина в крови [21], ритм становится более «сглаженным». Поэтому также представляет интерес рассмотрение возможности создания препаратов, корректирующих возрастные изменения ритма продукции мелатонина у людей через ингибирование MAO в том случае, если «оформление» ритма секреции мелатонина действительно зависит от активности MAO в эпифизе.

В нашем предыдущем исследовании было показано, что активность глутатионпероксидазы, фермента метаболизма пероксида водорода, по всей вероятности, снижается в эпифизах крыс при старении [5]. Снижение активности этого фермента и сопутствующее ему увеличение активности MAO В, которая производит пероксид водорода, могут способствовать развитию окислительного стресса в эпифизе стареющих крыс. Это может способствовать возрастной инволюции данного органа, метаболическая активность которого, по-видимому, влияет на процесс старения всего организма [10, 16].

Выводы

1) В эпифизах взрослых крыс определяется высокий уровень бензиламин:O₂-оксидоредуктазной активности, превышающий аналогичную активность в большинстве других исследованных структур мозга и в гипофизе. 2) Аминооксидазная активность, определяемая спектрофотометрически в шишковидной железе крыс с использованием бензиламина, полностью принадлежит MAO В; уровень активности увеличивается при старении.

Литература

1. *Виноградова И. А., Чернова И. В.* Влияние светового режима на возрастную динамику эстральной функции и уровня пролактина в сыворотке крови у крыс // Успехи геронтологии. 2006. Т. 19. С. 60-65.

2. *Гланц С.* Медико-биологическая статистика: пер. с англ. М.: Практика, 1999. (Glantz S. Mediko-biologicheskaja statistika: transl from Engl. [Primer of Biostatistics. McGraw-Hill. 1994]. Moscow: Praktika, 1999.)
3. *Горкин В.З.* Аминоксидазы и их значение в медицине. М.: Медицина, 1981.
4. *Матюшичев В. Б.* Элементы статистической обработки результатов биохимического эксперимента. Л.: Издательство Ленинградского ун-та, 1990.
5. *Разыграев А. В.* Активность глутатионпероксидазы в ткани шишковидной железы крыс и ее изменение при старении // Успехи геронтологии. 2010. №3. С. 392-395.
6. *Разыграев А. В. Арутюнян А.В.* Активность моноаминоксидазы в структурах головного мозга крыс // Нейрохимия. 2007. Т. 24. №3. С. 206-210.
7. *Разыграев А. В., Арутюнян А. В.* Моноаминоксидазная активность ткани эпифиза и структур головного мозга крыс разного возраста // Успехи геронтологии. 2008. Т. 21. №. 3. С. 402-405.
8. *Разыграев А. В.* Глутатионпероксидазная активность в структурах белого и серого веществ головного мозга крыс // Нейрохимия. 2012. Т. 29. №1. С. 19-22.
9. *Чеснокова Л.С., Войнова Н.Е., Комкова А.И., Лянгузов А.Ю.* Методы количественного определения белка / в кн: Ферменты и нуклеиновые кислоты (ред. - Владимиров В.Г., Лызлова С.Н.). СПб.: Издательство С.-Петербургского ун-та, 1997.
10. *Anisimov V. N., Popovich, I. G., Zabezhinski, M. A. et al.* Melatonin as antioxidant, geroprotector and anticarcinogen // Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics. 2006. Vol. 1757. №. 5. P. 573-589.
11. *Berry M. D., Juorio A. V., Paterson, I. A.* The functional role of monoamine oxidases A and B in the mammalian central nervous system // Progress in neurobiology. 1994. Vol. 42. №3. P. 375-391.
12. *Buffoni F., Banchelli G., Ignesti G. et al.* (1983). The presence of an inhibitor of benzylamine oxidase in human blood plasma // Biochemical Journal. 1983. Vol. 211. №. 3. P. 767.
13. *Díaz E., Fernández C., Castrillón P. O. et al.* Effect of exogenous melatonin on neuroendocrine–reproductive function of middle-aged female rats // Journal of reproduction and fertility. 1999. Vol. 117, № 2. P. 331-337.
14. *González S. Moreno-Delgado D., Moreno E. et al.* Circadian-related heteromerization of adrenergic and dopamine D4 receptors modulates melatonin synthesis and release in the pineal gland // PLoS Biology. 2012. Vol. 10. №. 6. e1001347.
15. *Holschneider D. P., Shih J. C.* Monoamine oxidase: basic and clinical perspectives // In: Psychopharmacology: the fourth generation of progress (CD ROM edition) / Ed. F.E. Bloom, D. J. Kupfer. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 1998.
16. *Jenwitheesuk A., Nopparat C., Mukda S. et al.* Melatonin regulates aging and neurodegeneration through energy metabolism, epigenetics, autophagy and circadian rhythm pathways // International journal of molecular sciences. 2014. Vol. 15. №. 9. P. 16848-16884.

17. Kitahama K., Araneda S., Geffard M. et al. Tyramine-immunoreactive neuronal structures in the rat brain: abundance in the median eminence of the mediobasal hypothalamus // *Neuroscience letters*. 2005. Vol. 383. 3. P. 215-219.
18. Kvam P. H., Vidakovic B. *Nonparametric statistics with applications to science and engineering*. Hoboken: John Wiley & Sons, 2007.
19. Masson-Pevet M., Pevet P. Cytochemical localization of type-A and -B monoamine oxidase in the rat pineal gland // *Cell and Tissue Research*. 1989. Vol. 255. P. 299-305.
20. Miguez J. M., Recio J., Sánchez-Barceló E., Aldegunde M. Changes with age in daytime and nighttime contents of melatonin, indoleamines, and catecholamines in the pineal gland: a comparative study in rat and Syrian hamster // *J. Pineal Res.* 1998. Vol. 25. №2. P. 106–115.
21. Mishima K. Okawa, M., Shimizu, T., Hishikawa, Y. Diminished Melatonin Secretion in the Elderly Caused by Insufficient Environmental Illumination // *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2001. Vol. 86. №. 1. P. 129-134.
22. Nicotra A., Pierucci F., Parvez H., Senatori O. Monoamine oxidase expression during development and aging // *NeuroToxicology*. 2004. Vol. 25. P. 155-165.
23. Paxinos G., Watson C. *The rat brain in stereotaxic coordinates*. Sydney: Acad. Press, 1982.
24. Przybylska-Gornowicz B., Lewczuk B., Ciesielska-Myszka L., Wyrzykowski Z. Cytochemical localization of monoamine oxidase in the pig pineal gland // *Folia Histochem Cytobiol.* 1994. Vol. 32. P. 161-166.
25. *R Core Team*. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0. 2011.
26. Ramsay R.R. Monoamine oxidases: the biochemistry of the proteins as targets in medicinal chemistry and drug discovery // *Current topics in medicinal chemistry*. 2012. Vol. 12. №20. P. 2189-2209.
27. Simonneaux V., Ribelayga C. Generation of the melatonin endocrine message in mammals: a review of the complex regulation of melatonin synthesis by norepinephrine, peptides, and other pineal transmitters // *Pharmacol. Rev.* 2003. Vol. 55. P. 325-395.
28. Tabor C.W., Tabor H., Rosenthal S.M. Purification of amine oxidase from beef plasma // *J. Biol. Chem.* 1954. Vol. 208, №2. P. 645-661.
29. ThyagaRajan S., Meites J., Quadri S. K. Deprenyl reinitiates estrous cycles, reduces serum prolactin, and decreases the incidence of mammary and pituitary tumors in old acyclic rats // *Endocrinology*. 1995. Vol. 136. №. 3. P. 1103-1110.
30. Uçar, G. Semicarbazide-sensitive amine oxidase: biochemical and physiological properties // *Turk. J. Biochem.* 2004. Vol. 29. №3. P. 247-254.
31. Van der Schyf C. J., Geldenhuys W. J. Multimodal drugs and their future for Alzheimer's and Parkinson's disease // In: *International Review of Neurobiology* / Ed. M. B. H. Youdim, P. Douce. Oxford: Elsevier. 2011. Vol. 100. P. 107-125.
32. Vera J.C. Measurement of microgram quantities of protein by a generally applicable turbidimetric procedure // *Analytical biochemistry*. 1988. Vol. 174. №. 1. P. 187-196.