

Возрастные особенности перекисного окисления липидов у крыс после экстремальных криовоздействий

UDC 612.015.3:615.014.41:57.084

V.G. BABIYCHUK*

Age Peculiarities of Lipid Peroxidation in Rats After Extreme Cryoeffects

Полученные результаты позволяют предположить, что важным механизмом потенцирующего действия экстремального криовоздействия (ЭКВ) является положительное влияние на прооксидантно-антиоксидантное состояние организма исследуемых животных, которое сохраняется продолжительное время после окончания воздействия. При этом наблюдается возрастная особенность: более высокая реактивность у молодых животных. В целом активация антиоксидантной системы сердца под влиянием ЭКВ независимо от возраста позволяет увеличить резистентность организма к стрессу. Хроническая недостаточность функции антиоксидантной системы является одной из причин развития сердечно-сосудистой патологии. “Мягкий” непродолжительный стресс, каким может быть ЭКВ, способствует выраженной защитной реакции за счёт ранней мобилизации антиоксидантных систем организма.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, экстремальное криовоздействие, гематоэнцефалический барьер, антиоксидантная система.

Отримані результати дозволяють припустити, що важливим механізмом дії, який потенціює екстремальний криовплив (ЕКВ), є позитивний вплив на прооксидантно-антиоксидантний стан організму досліджуваних тварин, що зберігається тривалий час після закінчення впливу. При цьому спостерігається вікова особливість: більш висока реактивність у молодих тварин. У цілому активація антиоксидантної системи серця під впливом ЕКВ, незалежно від віку дозволяє збільшити резистентність організму до стресу. Хронічна недостатність функції антиоксидантної системи є однією з причин розвитку серцево-судинної патології. “М’який” нетривалий стрес, яким може бути ЕКВ, сприяє вираженій захисній реакції за рахунок ранньої мобілізації антиоксидантних систем організму.

Ключові слова: перекисне окислення ліпідів, екстремальний криовплив, гематоенцефалічний бар’єр, антиоксидантна система.

The obtained results suppose that an important mechanism of potentiative extreme cryoeffect (ECE) is a positive influence on pro-oxidative and anti-oxidative state of an organism of the animals under study. This effect has been kept for a long period after the influence termination. In this case there are observed age peculiarities (higher reactivity for young animals). In a whole the activation of heart anti-oxidative system under ECE regardless age permits to increase an organism stress resistance. Chronic insufficiency of the function of anti-oxidant system is one of the causes of cardiovascular pathology development. “Mild” and short-term stress, that may be ECE, contributes to a manifested protective reaction due to early mobilization of anti-oxidant organism system.

Key-words: lipid peroxidation, extreme cryoeffect, blood brain barrier, antioxidative system.

Гомеостаз – постоянство различных физиологических констант организма, включающий механизмы адаптации и координации физиологических процессов, которые обеспечивают единство организма не только в норме, но и при изменившихся условиях его существования. Эта стабильная система осуществляет активный поиск наиболее устойчивого и оптимального состояния организма, что выражается в адаптации, которая может регулироваться несколькими взаимодействующими управляющими системами.

Начало нового этапа в научных исследованиях связывают с открытием феномена свободно-радикального окисления, сопровождающегося образованием активных форм кислорода, ненасы-

Homeostasis is stability of various physiological constants of an organism including the mechanisms of adaptation and coordination of physiological processes providing the unity of an organism not only in the norm but also during the altered conditions of its existence. This stable system accomplishes an active search of the most resistant and optimal state of an organism, that manifests in adaptation which may be regulated by several interacting between themselves controlling systems.

New stage in these researches is related to the discovering of the phenomenon of free radical oxidation, accompanying by the formation of oxygen active forms, unsaturated fatty acids, hydroperoxides, aldehydes and ketons [14, 16, 28].

Институт проблем криобиологии и криомедицины
НАН Украины, г. Харьков

* Адрес для корреспонденции: ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: +38 (057) 372-74-35, факс: +38 (057) 373-30-84, электронная почта: cryo@online.kharkov.ua

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkov, Ukraine

* Address for correspondence: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 373 7435, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

ценных жирных кислот, гидропероксидов, альдегидов и кетонов [14, 16, 28].

Было установлено, что в живых системах постоянно протекают процессы неферментативного ПОЛ биомембран, а повышенное количество активных форм кислорода ведет к патофизиологическим механизмам деструкции клеточных мембран и гибели клеток [8, 9, 26, 27].

Обоснована концепция участия продуктов ПОЛ в механизмах развития стресса, которые являются общим неспецифическим звеном запуска стресс-реакции в ответ на действие разнообразных неблагоприятных факторов. Эта концепция подтверждается выраженным антистрессовым эффектом при применении антиоксидантов, способствующих подавлению выработки первичного медиатора стресса и ослаблению реакции стресс-реализующих систем. Специальные регуляторные системы, контролирующие свободнорадикальные реакции ПОЛ на низком стационарном уровне, обеспечивают нормальные метаболические процессы и регулируют функцию клеток.

В ряде случаев ПОЛ выступает как универсальный модификатор свойств мембран и важный физиологический регулятор их структуры и функции [15, 16].

Присутствующее в живых системах ПОЛ имеет универсальный характер и активируется в разнообразных экстремальных ситуациях; его интенсивность и степень выраженности зависит от степени включения механизмов гомеостаза в общем синдроме адаптации в качестве первичного и вторичного “медиатора” стресса [8-11].

Следовательно, ускорение или замедление ПОЛ влияет на состав клеточных мембран и структурно-функциональную организацию клетки в целом, так как оно может служить механизмом уничтожения избыточных внутриклеточных структур и обновления биомембран [13].

Клетки организма имеют набор разнообразных защитных механизмов. При эффективном функционировании механизмов антиоксидантной системы показателем степени выраженности ПОЛ является скорость расходования антиоксидантных резервов. Следовательно, определять степень тяжести и выраженности стресса, нарушения жизнедеятельности возможно по состоянию компонентов окислительного гомеостаза.

Стресс можно рассматривать как необходимое звено неспецифической реактивности организма и этап в комплексе адаптации, составляющий необходимый компонент нормальной жизнедеятельности. В таком случае существует генетически закрепленная программа запуска реакций приспособления к экстремальным условиям в центрах, формирующих сложный координи-

It has been established that in living systems the processes of non-enzymatic lipid peroxidation of biomembranes proceed constantly and increased number of oxygen active forms leads to pathological mechanisms of cell membrane destruction and cell death [8, 9, 26, 27].

There has been stipulated the concept of participation of LPO products in the mechanisms of stress development, which are general non-specific link of triggering of stress-reaction in response to the effect of various unfavourable factors. This concept is confirmed by manifested anti-stress effect when applying anti-oxidants, contributing to the suppression of producing primary mediator of stress and weakening the reaction of stress-realizing systems. Special regulatory systems, controlling free radical reactions of LPO at low fixed level, provide normal metabolic processes and control cell function.

LPO in some cases acts as universal modifier of membrane properties and important physiological regulator of their structure and function [15, 16].

Presented in living systems LPO has universal character and is activated in different extreme situations; its intensity and manifestation degree of the process depend on the extent of triggering the homeostasis mechanisms in total syndrome of adaptation as primary and secondary “mediator” of stress [8-11].

Therefore, acceleration or slowing-down the LPO affects the composition of cell membranes and structural-functional organization of cells in a whole because LPO may serve as the mechanisms of destruction of surplus intracellular structures and renewal of biomembranes [13].

Organism's cells possess different protective mechanisms counteracting LPO activation. In the state when mechanisms of anti-oxidative system actively function, the index of LPO manifestation degree is the rate of anti-oxidative reserves expenditure. So, the severity and manifestation of stress degree, impairment of vital activity could be determined taking into account the state of components of oxidative homeostasis.

If to consider stress as essential link of non-specific response of an organism as the stage in complex of adaptation and homeostasis factor comprising necessary component of normal vital activity, then there is obviously determined by evolution and genetically fixed program of adaptation reactions' triggering under extreme situations in the centers where a complicated coordinated response of an organism is formed, which is CNS and, in particular, hypothalamus, controlling the function of vegetative nervous system.

Suppression of LPO intensity should be referred as appearance of the state of organism's increased

рованный ответ организма. Таким центром является ЦНС и, в частности гипоталамус, управляющий функцией вегетативной нервной системы.

Подавление интенсивности ПОЛ можно связать с наличием повышенной резистентности организма к действию экстремальных факторов, что приводит к интенсивному расходу антиоксидантных резервов, после чего может наступить истощение организма, выраженное в замедлении стресс-ингибирующих процессов. Интерес к процессам ПОЛ и контролирующим его системам обусловлен одной из существующих теорий старения организма, согласно которой усиление свободнорадикального окисления является причиной ухудшения функции клеток и, как следствие, – возникновения различных заболеваний.

В стареющем организме, как правило, подавление интенсивности ПОЛ ограничено снижением активности центральных стресс-систем, к которым относится обладающая пре- и постсинаптическим тормозным действием система, в которой метаболитом является гамма-аминомасляная кислота (ГАМК). В нормальных условиях ГАМК воздействует на центры регуляции вегетативной нервной и эндокринной систем, тем самым существенно ограничивая функционирование стресс-реализующих систем. Так как ГАМК проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), она может быть использована для уменьшения активации ПОЛ [24] и уменьшения степени повреждения органов и гибели клеток.

В последние годы успешно развиваются новые неинвазивные методы лечения и воздействия на организм, направленные на активацию собственных защитных систем организма [2-7]. Определяющая роль резонансных взаимодействий в процессах регуляции состояния различных систем организма, особенно ЦНС, отмечена в [18-22].

В этой связи перспективным путем для нормализации функционального состояния организма является модуляция стимулирующих ритмических холодовых воздействий с учетом индивидуальных особенностей секундной биоэлектрической активности головного мозга, приводящих к повышению функциональной активности ГЭБ.

Такой подход важен для коррекции нарушений функциональных систем стареющего организма, когда собственные регуляторные системы теряют пластичность, а уровень компенсаторных реакций индивидуален.

Экстремальные криовоздействия (ЭКВ) могут индуцировать в организме систему ПОЛ, изменяя соотношение прооксидантно-антиоксидантного равновесия. При увеличении количества активных продуктов ПОЛ запускается цепь реакций в

resistance to the effect of extreme factors preserving for a long time period, that, in its turn, causes an intensive expenditure of energetic stocks, anti-oxidative reserves, and then an organism exhaustion can occur, which may lead to the slowing-down of stress-inhibiting processes. Interest to the LPO processes and systems controlling is stipulated by one of the existing theories of organism ageing, describing the strengthening of free radical oxidation as the cause of cell “deterioration” and the alteration of their functional properties as one of the reasons of the frequency of appearance of various diseases.

In ageing organism as a rule the suppression of LPO intensity is limited by the reduction in activity of central stress systems, to which is referred gamma-aminobutyric acid (GABA), ergic inhibiting system, possessing both pre- and post-synaptic inhibiting effects. Metabolite of this system is gamma aminobutyric acid under normal conditions, affecting the regulation centers of vegetative nervous and endocrine systems, is capable of significantly restricting the production of stress-realizing systems. Taking into account the ability of GABA to penetrate via blood brain barrier (BBB) and its properties may be used to reduce the activation of LPO [24] and thereby to decrease a threat rate of damage of organs and cell death, to increase the possibility of organism survival under exhaustion conditions.

Recently new non-invasive treatment and effect methods on organism targeted to activation of own protective organism systems [2-7] have been successfully developed. Determining role of resonance interactions in regulation processes of the state of various systems of an organism, especially of CNS, was reported elsewhere [18-22].

In this connection the perspective way for normalization of functional state of an organism is modulation of stimulating rhythmic cold effects taking into account individual peculiarities of second bioelectrical activity of brain, resulting into a rise of BBB functional activity.

Such an approach is quite actual one for the correction of impairments of functional systems of ageing organism, when own regulatory systems lose their plasticity and level of compensatory reactions is individual.

Extreme cryoeffects may induce in an organism LPO system by changing the ratio of pro-oxidant-anti-oxidant balance, with increasing the number of active LPO products, which acting as unfavorable factor trigger the chain of reactions in an organism, forming common adaptation reaction. In response to the stress nervous, endocrine, immune systems are activated, anti-oxidant potential increases, resulting in LPO suppression that correspond properly the solving of vital task of preventing stress situation.

организме, формирующая общую адаптационную реакцию. В ответ на стресс активируются нервная, эндокринная, иммунная системы, возрастает антиоксидантный потенциал, в результате чего угнетается ПОЛ, что как нельзя более соответствует решению жизненно важной задачи – преодолению стрессовой ситуации.

Особый интерес представляют краткосрочные периодические действия экстремально низких температур (-120°C) на деятельность вегетативных центров и систем нейроэндокринной регуляции, которые непосредственно оказывают влияние на интенсивность реакций ПОЛ. Непродолжительное действие экстремально низких температур не истощает энергетические и другие функциональные резервы организма, а наоборот активно влияет на вегетативную нервную систему, повышая её резистентность. Низкие температуры способствуют повышению проницаемости ГЭБ для ряда биологически активных веществ в организме, что благоприятно сказывается на многих адаптационных процессах, особенно скомпроментированных болезнью.

Показано [23], что усиление противофазных колебаний проницаемости ГЭБ для симпато- и парасимпатомиметиков при охлаждении может восстановить “молодую” физиологическую ритмику функционирования ГЭБ, оптимизировать нарушенные взаимодействия функциональных систем стареющего организма.

Таким образом, цель работы – изучение возрастных особенностей прооксидантно-оксидантного состояния крови, тканей мозга и сердца подвергнутых ЭКВ молодых половозрелых и старых крыс как непосредственно после охлаждения, так и через 3 недели после последнего воздействия.

Материалы и методы

Опыты проводили на белых беспородных молодых половозрелых и старых крысах-самцах массой 160-180 г в соответствии с “Европейской конвенцией защиты позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях” (Страсбург, 1985).

Экстремальные криовоздействия осуществлялись в криокамере в течение 1,5-2 минут при температуре -120°C . Старые и молодые половозрелые животные были разбиты на три подгруппы: 1-й проводили шесть ЭКВ, 2-й и 3-й – девять, 1- и 2-ю группу исследовали сразу после последнего сеанса, а 3-ю исследовали через 3 недели после 9-го сеанса. Контролем служили две группы крыс массой 160-180 и 250-280 г.

После декапитации проводили забор крови, изолировали головной мозг и сердце после

Short-term, periodic effects of extreme low temperatures (-120°C) on the activity of vegetative centers and systems of neuroendocrine regulation of LPO reactions are of special interest. Short-term effect of extremely low temperatures does not exhaust energetic and other functional reserves of an organism, but actively affects vegetative nervous system, increasing its resistance. Low temperatures contribute to increase in the BBB permeability for some biologically active substances in an organism, that favorably affects many adaptation processes, especially those altered by a disease.

It has been noted [23] that strengthening of anti-phase oscillations of BBB permeability for sympato- and parasympatomimetics during cooling may recover “young” physiological rhythmicity of BBB functioning, optimize impaired interactions of functional systems of ageing organism.

Thus the research aim is to study age peculiarities of pro-oxidant-oxidant blood state, brain and heart tissues of young and aged rats, subjected to extreme cryoeffect both directly after cooling and 3 weeks later the last effect.

Materials and methods

The experiments were performed in white breedless young mature and aged male rats of 160-180 g according to the standards of “European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other purposes.” (Strasbourg, 1985).

Extreme cryoeffect (ECE) was made in cryochamber for 1.5-2 min at -120°C . Aged and young mature animals were divided into 3 subgroups each: for the first one there were done 6 ECEs, 9 ones for the second and third group, the first and the second groups were studied after the last session, the third one was studied 3 weeks later the 9th session. Two groups of rats with the weights of 160-180 and 250-280g served as the control.

After decapitation blood was procured, brain and rat were isolated after *in situ* perfusion. In blood serum there was examined the content of TBA-active products according to the method [1]. Homogenates from organs' tissue were prepared with 50 mM tris HCl buffer (pH 7.4), containing 50 mM NaCl in the ratio of 1:2 and 1:4 for brain and heart, correspondingly. In homogenates there were studied basal level of TBA-active products; intensity of Fe^{2+} -ascorbate-induced LPO on the rate of accumulation of TBA-active products in pro-oxidant buffer [14], enzymes' activity: catalase on H_2O_2 decrement at 240 nm [15], glutathione peroxidase (GP) on the surplus of content of oxidized glutathione at 260 nm [29]; glutathione reductase (GR) on the reduction of NADPH content at 340 nm [30]. Protein content was found with biuretic method.

перфузии *in situ*. В сыворотке крови определяли содержание ТБК-активных продуктов [1]. Гомогенаты из ткани органов готовили на 50 мМ tris HCl буфере (pH 7,4), содержащем 50 мМ NaCl в соотношении 1:2 и 1:4 для мозга и сердца соответственно. В гомогенатах исследовали базальный уровень ТБК-активных продуктов; интенсивность Fe²⁺-аскорбат-индуцированного ПОЛ по скорости накопления ТБК-активных продуктов в прооксидантном буфере [4]; активность ферментов: каталазы по убыли H₂O₂ при 240 нм [15]; глутатионпероксидазы (ГПО) по приросту содержания окисленного глутатиона при 260 нм [29]; глутатионредуктазы (ГР) по снижению содержания НАДФН при 340 нм [30]. Содержание белка определяли биуретовым методом.

Результаты статистически обрабатывали при помощи компьютерного пакета программ "Statistica v. 5.5". Данные оценивали, используя непараметрический критерий Манна-Уитни, выражали в виде M±m. Достоверно различающимися считали результаты при p<0,05.

Результаты и обсуждение

Вторичные продукты ПОЛ характеризуют интенсивность развивающихся реакций не сразу, а спустя определенное время после воздействия экстремального фактора, отражая тем самым долговременные изменения прооксидантно-антиоксидантного статуса организма.

Определение уровня ТБК-активных продуктов в сыворотке крови – один из способов оценки интенсивности процессов ПОЛ в организме в целом. Как видно из рис. 1, при исследовании ТБК-активных продуктов сыворотки крови в контрольных сериях экспериментов данный показатель с возрастом повышался и составлял 6,09±0,05 для молодых животных (МЖ) и 10,83±1,1 мкмоль/л – для старых животных (СЖ). Динамика накопления ТБК-активных продуктов после ЭКВ также зависела от возраста. Так, у МЖ после 6-го воздействия уровень ТБК повышался, после 9-го возвращался к норме, а через 3 недели был ниже исходного в 1,3 раза (рис. 1). У СЖ 6- и 9-е ЭКВ приводили к выраженному снижению содержания ТБК в сыворотке крови в 1,6 раза, и его повышению через 3 недели, однако контрольного уровня не достигало, т. е. независимо от возрастных различий в динамике показателя ТБК-активных продуктов ЭКВ оказывало пролонгированное действие на его снижение или повышение. Если у МЖ в ответ на ритмическое ЭКВ отмечена четко выраженная реакция повышения накопления ТБК-активных продуктов со снижением их содержания к отдаленным срокам наблюдения, то у СЖ, наоборот, на 6- и 9-е сутки

Results were statistically processed using "Statistica v.5.5" software. Data were evaluated with Mann-Whitney parametric criterion and expressed as M±m. The results were statistically significant at p<0.05.

Results and discussion

Secondary LPO products, including malone dialdehyde (MDA), which is found in thyobarbituric acid (TBA) reaction is referred, characterize the intensity of developing reactions some time later the extreme factor effect, reflecting thereby long-term changes in pro-oxidant-anti-oxidant status of an organism.

Examining the level of TBA-active products in blood serum is one of the ways to estimate the intensity of LPO processes in an organism in a whole. Fig 1. shows that during studying TBA-active products of blood serum in control series of experiments this parameter increased with age and made for young animals 6.09±0.05 and 10.83±1.1 μmol/l for aged ones.

Accumulation dynamics of TBA-active products after ECE was also age-dependent. So, in young animals after 6th effect the level of TBA increased, after 9th it came to norm and in 3 weeks it was lower than initial one in 1.3 times (Fig. 1). For aged animals 6th and 9th effects of ECE resulted in a reduction of TBA content in 1.6 times and in 3 weeks that in serum increased, but does not reach the control level (Fig. 1), i.e. independently on age differences in dynamics of the index of TBA-active products ECE rendered prolonged effect on its reduction or rise. If in young animals in response to rhythmic ECE there was noted a manifested reaction of increase in TBA-active products' accumulation with the decrease in their content to distant observation terms, then in aged animals vice versa to the 6th and 9th days their reduction with the approaching to the control indices in 3 weeks took place.

Increased content of TBA-active products in blood serum of young animals could be explained with developing non-specific responses to the effect of extreme cryotherapy. In this case primary value belongs to the effect duration and character, as well as its intensity. It is obvious that in our ECE experiments, being a "mild" stress, does not result to significant changes of oxidative homeostasis balance and even to the 3rd week LPO is practically normalized due to the inclusion of protective mechanisms for following balancing of homeostasis in young animals.

Human and animal organisms have various reactions of protection and countereffect to oxidative stress development. However if stress factor acts for a long time, then gradually exhausting protection mechanisms of cells and organism, anti-oxidative processes slow down. Under these conditions the

имело место их снижение с дальнейшим приближением к показателям контроля через 3 недели.

Повышенное содержание ТБК-активных продуктов в сыворотке крови МЖ можно объяснить развивающимися неспецифическими реакциями в ответ на действие экстремальной криотерапии. При этом первостепенное значение приобретают продолжительность, характер воздействия и его интенсивность. Очевидно, в наших экспериментах ЭКВ, являясь “мягким” стрессом, не приводит к существенным изменениям равновесия окислительного гомеостаза, и уже к 3-й неделе ПОЛ практически нормализуется за счет включения защитных механизмов и последующего уравнивания гомеостаза у МЖ.

Организм человека и животных оснащен разнообразными реакциями защиты и противодействия развитию окислительного стресса. Однако, если фактор стресса действует продолжительное время, то постепенно истощаются механизмы защиты клеток и организма, замедляются процессы антиоксидантных систем. В таких условиях развивается возможность вторичной активации ПОЛ, что характерно для стареющего организма. Могут проявляться индивидуальные особенности стареющего организма в ответной реакции на стресс, заключающиеся в усилении или ослаблении реакции ПОЛ.

Эксперименты показали, что содержание ТБК-активных продуктов в сыворотке крови СЖ после 6- и 9-го воздействия приближается к показателям у МЖ, затем существенно возрастает у СЖ и продолжает снижаться у МЖ после 3-х недель наблюдения.

В зависимости от возраста животных ЭКВ приводило к достоверному повышению базального уровня ТБК-активных продуктов в сердце как молодых, так и старых животных.

Как видно из рис. 2, в тканях миокарда динамика повышения ПОЛ у молодых крыс четко прослеживалась в те же сроки, что и изменения в сыворотке крови, свидетельствующие о том, что функция ПОЛ активна в молодом организме в условиях холодового стресса и направлена на активацию антиоксидантных систем, необходимых для поддержания гомеостаза.

Повышенное содержание ТБК-активных продуктов определялось в миокарде СЖ (рис. 2) после 6- и 9-го ЭКВ, в то время как базальный уровень ТБК-активных продуктов в сыворотке крови этой группы животных был пониженным.

Важнейшим молекулярным механизмом развития повреждения сердца в стареющем организме является активация процессов ПОЛ в мембранах кардиомиоцитов, приводящих к структурно-

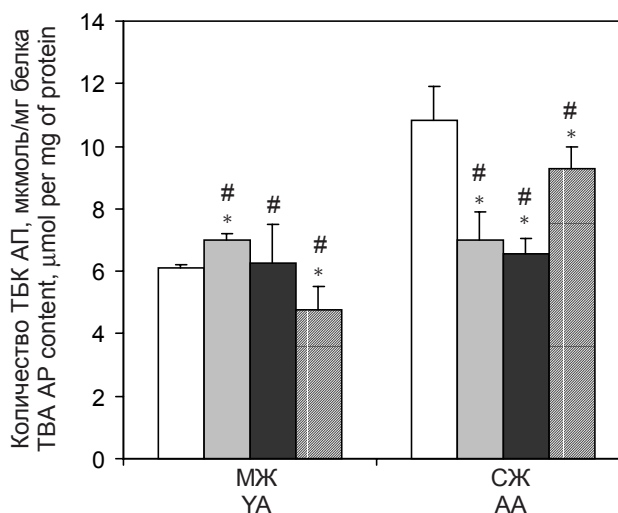


Рис. 1. Содержание ТБК-активных продуктов в сыворотке крови животных: □ – контроль; □ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▨ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия.

Fig. 1. Level of TBA-active products in blood serum of animals: □ – control; □ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▨ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect.

possibility of secondary LPO activation develops, that is characteristic for ageing organism. Moreover individual peculiarities of ageing organism in response to stress, manifesting in strengthening or weakening of LPO reaction may manifest.

Experiments have shown that content of TBA-active products in blood serum of aged animals after 6th and 9th effect approach to the parameters for young animals, then significantly increases for aged animals and continues declining in young ones after 3 observation weeks.

Depending on animals' age ECE resulted in statistically significant increase in basal level of TBA-active products in heart both of young and aged animals.

Fig. 2 shows that in myocardium tissue the dynamics of LPO rise in young rats was distinctly traced at the same terms as the changes in blood serum, testifying to the fact that LPO function is active in a young organism under the conditions of cold stress and directed towards activation of anti-oxidative systems, necessary for homeostasis maintenance.

Increased content of TBA-active products was found in myocardium of aged animals (Fig. 2) during the period of 6th and 9th ECE meanwhile as basal level of TBA-active products in blood serum of this group of animals was reduced.

The most important molecular mechanism of development of heart impairment in ageing organism is activation of LPO processes in membranes of

функциональным нарушениям в сердечно-сосудистой системе.

В динамике развития ишемии миокарда доступ кислорода существенно ограничен, что должно ингибировать спонтанно протекающий процесс ПОЛ, а количество его активных продуктов в крови и тканях уменьшается. Однако в некоторых работах [12] показаны противоположные явления, что объясняется особенностью и ролью сердца в поддержании гомеостаза и жизни в целом. Оказалось, что в сердце даже в условиях блокады доставки кислорода сохраняется его достаточный уровень, который может поддерживать функцию сердца на протяжении 60 мин. Механизм этого явления объясняется продолжающейся диссоциацией оксигемоглобина в капиллярном русле и диффузией кислорода в клетки. Это обеспечивает минимальные условия для образования небольшого количества продуктов ПОЛ, активируя таким образом функциональные системы адаптации. Можно предположить, что ЭКВ повышает функциональные возможности сердца СЖ, улучшает его гемодинамику, а повышение активности процессов ПОЛ следует рассматривать как сохранение или повышение свойств миокарда к мобилизации антиоксидантных систем и объясняется необходимостью стабилизации функциональных свойств сердца стареющего организма. Об этом свидетельствует и то обстоятельство, что ТБК-активные продукты в миокарде старых животных соответствовали контрольным показателям через 3 недели наблюдения.

Это подтверждает и установленный нами факт благоприятного влияния ЭКВ на вегетативную нервную систему, способность выравнять баланс активности симпатического и парасимпатического отделов и таким образом стабилизировать основные функциональные свойства сердечно-сосудистой системы.

Ионы металлов, в частности Fe^{2+} , обладают мощным прооксидантным потенциалом и выступают как факторы разветвления цепей свободно-радикального окисления и общего усиления ПОЛ. Добавление Fe^{2+} в биологическую жидкость или реакционную смесь стимулирует процесс ПОЛ. Проведенные эксперименты показали, что интенсивность индуцированного ПОЛ в сердце МЖ снижалась в 3 раза после 6-го, восстанавливалась после 9-го ЭКВ и вновь угнеталась до 40% через 3 недели (рис. 3). В группе СЖ выраженных изменений в содержании индуцированных продуктов ПОЛ не происходило, после 6- и 9-го ЭКВ наблюдалась тенденция к его повышению, которая уменьшалась к отдаленным срокам наблюдения (рис. 3).

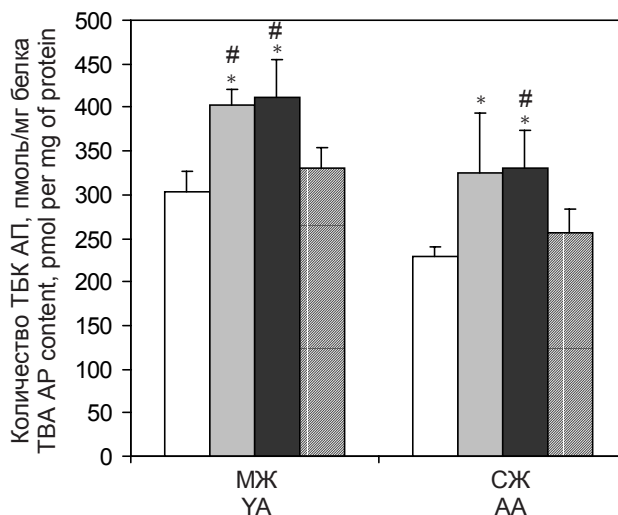


Рис. 2. Содержание ТБК-активных продуктов в ткани сердца животных: □ – контроль; ■ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▨ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия.

Fig. 2. Level of TBA-active products in heart tissue of animals: □ – control; ■ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▨ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect.

cardiomyocytes resulting in structural and functional disorders in cardiovascular system.

In dynamics of myocardium ischemia development oxygen access is significantly restricted and LPO process spontaneously proceeding is inhibited and the amount of its active products in blood and tissues decreases. However there was observed an opposite phenomenon explained by the peculiarity and role of heart in homeostasis and life maintaining in a whole [12]. In heart even under blocking of oxygen delivery its sufficient level capable of maintaining heart function for 60 min occurred to be preserved. This phenomenon mechanism is explained by continuing dissociation of oxyhemoglobin in capillary channel and oxygen diffusion into cells. This provides minimal conditions for the formation of small amount of LPO products thereby activating functional adaptation systems. It could be supposed that ECEs increase functional opportunities of heart of aged animals, improve its hemodynamics, and a rise in activity of LPO processes should be considered as preservation or enhancing myocardium properties to mobilization of anti-oxidant systems and is stipulated by the need in stabilization of functional properties of heart of ageing organism. This was confirmed by the fact that TBA-active products in myocardium of aged animals corresponded to the control indices in 3 weeks of observation.

This is supported by established by us fact of favorable ECE on vegetative nervous system, ability

Адаптация животных к факторам стресса, например кратковременным ЭКВ, мобилизует антиоксидантную систему организма, которая оказывает благоприятное воздействие на эмоционально-болевой синдром, часто сопровождающий нарушение деятельности сердечно-сосудистой системы, повышает устойчивость к гипоксии и избытку Ca^{2+} , оказывает мембранотропное действие [25].

Если учесть, что активация ПОЛ является важнейшим патогенетическим фактором, способствующим развитию сердечно-сосудистой патологии, то, очевидно, экстремальная криотерапия подавляет индуцированный ПОЛ в тканях сердца и стабилизирует функции прооксидантно-антиоксидантной системы организма животных.

Регуляция прооксидантно-антиоксидантного баланса осуществляется при помощи системы антиоксидантной защиты, включающей неферментативное и ферментативное звенья. Восстановленный глутатион (GSH) является связующим между ними, так как может участвовать в обоих типах взаимодействий со свободными радикалами.

Глутатион играет важную роль в защите клеток и внутриклеточной среды при развившемся окислительном стрессе любого происхождения. Пониженное его внутриклеточное содержание, обусловленное недостаточностью синтеза ферментами, существенно снижает устойчивость клеток и организма [32, 33, 37].

Восстановленный глутатион (GSH) обычно содержится внутри клеток в связанном виде и высвобождается в случае повышения концентрации АМФ при высокой функциональной активности в экстремальных ситуациях, диктующих организму необходимость активного участия глутатионовой антиоксидантной системы [31].

Как видно из рис. 4 уровень восстановленного глутатиона контрольной группы старых и молодых крыс существенно не отличался.

Особенностью реакции сердца МЖ на ЭКВ (рис. 4) было достоверное снижение GSH после 6-го воздействия на 80% по отношению к контролю с последующим увеличением в 1,3 раза относительно предыдущего этапа наблюдения после 9-го воздействия. Спустя 3 недели после начала эксперимента уровень GSH возвращался к показателям контрольной группы животных. В динамике исследований СЖ каких-либо существенных изменений содержания GSH в сердце не отмечено.

Было исследовано состояние ферментативного звена системы антиоксидантной защиты, а именно активности каталазы и ферментов сопряженной глутатионзависимой системы, глутатионперокси-

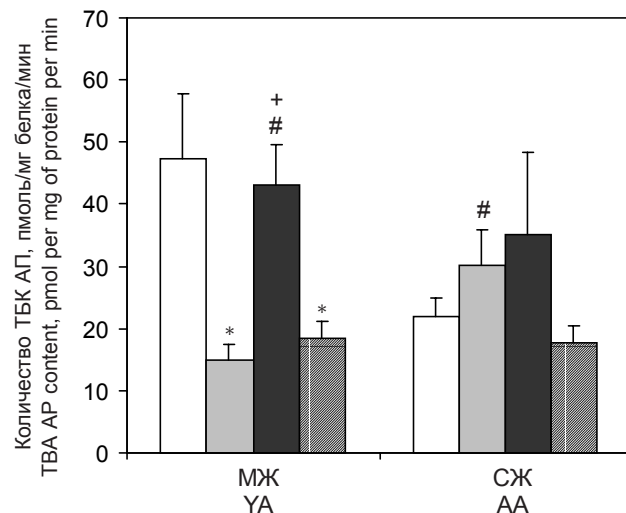


Рис. 3. Интенсивность индуцированного ПОЛ в ткани сердца животных: □ – контроль; ▒ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▨ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия; + – достоверно относительно 6-го воздействия.

Fig. 3. Intensity of induced LPO in animal heart tissue: □ – control; ▒ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▨ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect; + – statistically significant in respect of the 6th effect.

to smooth the balance of activity of sympatic and parasympatic compartments and thereby stabilize basic functional properties of cardiovascular system.

Metal ions in particular Fe^{2+} possess a powerful pro-oxidant potential and act as the factors of branching-out of free-radical oxidation chains and strengthening of LPO. Fe^{2+} adding into biological fluid or reaction mixture stimulates LPO. Due to performed studies it has been established that intensity of induced LPO in heart of young animals reduced 3 times after 6th ECE and recovered after 9th and again is suppressed down to 40% in 3 weeks (Fig. 3). in group of aged animals no manifested changes in content of induced LPO products occurred, after 6th and 9th ECEs there was found a tendency to its rise, which decreases to distant observation terms (Fig. 3).

Adaptation of animals to stress factors, including short-term ECEs, mobilizes an organism anti-oxidant system causing favorable effect on emotional and pain syndrome which, frequently accompanying the disorder in the activity of cardiovascular system, increases the resistance to hypoxia and Ca^{2+} surplus, renders membranotropic action [25].

If to consider that LPO activation is the most important pathogenetic factors, contributing to the development of cardiovascular pathology, then extreme cryotherapy suppresses evidently induced LPO in heart tissues and stabilizes the functions pro-oxidant-anti-oxidant system of animal organism.

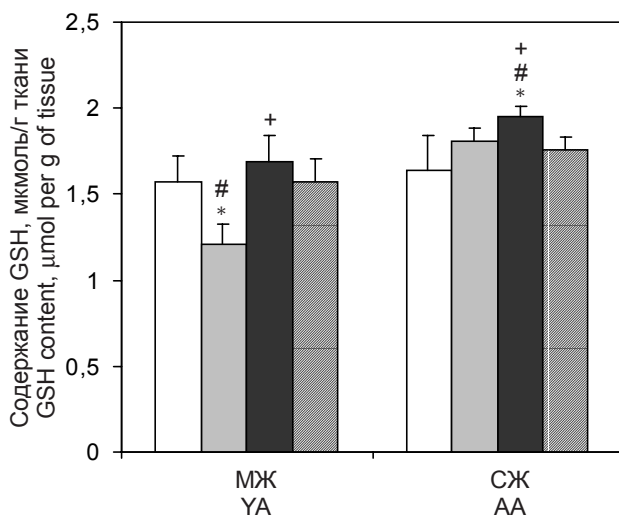


Рис. 4. Содержание восстановленного глутатиона в ткани сердца животных: □ – контроль; □ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▨ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия; + – достоверно относительно 6-го воздействия.

Fig. 4. Content of recovered glutathione in animal heart tissue: □ – control; □ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▨ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect; + – statistically significant in respect of the 6th effect.

дазы и глутатионредуктазы с учетом особенностей реакции сердечно-сосудистой системы на периодические экстремальные криовоздействия, взаимоотношения ПОЛ и антиоксидантных систем в сердце. Каталаза обладает исключительно высокой степенью катализа, ее основная функция в клетке – разлагать пероксид водорода.

Каталаза функционирует в тесном контакте с супероксиддисмутазой (СОД), также обладающей способностью быстро разлагать H_2O_2 , и своевременно инактивирует активные формы кислорода как в условиях нормальной жизнедеятельности, так и повышенной активности ПОЛ, обусловленной различными факторами [35].

Установлено, что с возрастом активность каталазы в ткани сердца повышалась в 2,1 раза, при этом GSH-ферменты оставались без изменений (рис. 5). Экстремальные криовоздействия приводили к достоверному повышению активности каталазы в сердце МЖ после 6- и 9-го воздействия. Спустя три недели после ЭКВ каталаза в исследуемых тканях была выше, чем в контроле (рис. 5). У СЖ каталазная активность в сердце достоверно увеличивалась после 9-го воздействия и ещё в большей степени после 3-х недель наблюдения.

Глутатионзависимая антиоксидантная система включает три зависимых фермента, среди которых ГПО и ГР обладают собственной антиоксидантной

Regulation of pro-oxidant-anti-oxidant balance is made by system of anti-oxidant protection, comprising non-enzymatic and enzymatic links. Reduced glutathione (GSH) is binding factor between them, since it may act in both types of interactions with free radicals.

Glutathione plays an important role in cell and intracellular medium protection at developed oxidative stress of any origin. Its intracellular lowered content, stipulated by insufficiency of synthesis by enzymes, considerably reduces cell and organism resistance [32, 33, 37].

Reduced glutathione in big amounts is found inside cells usually in bound state and released if concentration of adenosine monophosphate raises at high functional activity under extreme situation, dictating an organism a need in active participation of glutathione anti-oxidant system [31].

Fig. 4 shows that the level of reduced glutathione of the control group of aged and young rats did not differ considerably.

The response peculiarity of young animal heart on ECE (Fig. 4) was statistically significant decrease in GSH after 6th effect by 80% in respect of the control with following rise in 1.3 times after 9th effect in respect of previous observation stage. Three weeks later the experiment start a reduced glutathione came back to the indices of the control group of animals. In research dynamics for aged animals no significant changes in the content of reduced glutathione in heart was found by us.

There was studied the state of enzymatic link of anti-oxidant protection system, namely of catalase activity and enzymes of conjugated glutathione-dependent system, glutathione peroxidase (GPO) and glutathione reductase (GR), taking into account the peculiarities of response of cardiovascular system on periodic extreme cryoeffects, relationship between LPO and anti-oxidant systems in heart. Catalase has quite a high degree of catalysis, its main function in a cell is to degrade hydrogen peroxide.

Catalase functions tightly with superoxide dismutase (SOD) which is also able quickly and effectively degrade H_2O_2 , timely inactivates active oxygen forms both under conditions of normal vital activity and increased LPO activity, stipulated with various factors [35].

We have found that with ageing the activity of catalase in heart tissue increased in 2.1 times, herewith GSH-enzymes remained unchanged. Extreme cryoeffects resulted in statistically significant rise in catalase activity in heart of young rats after 6th and 9th effects. Three weeks later the ECE catalase in studied tissue was higher that in the control (Fig. 5). In aged animals catalase activity in heart statistically and

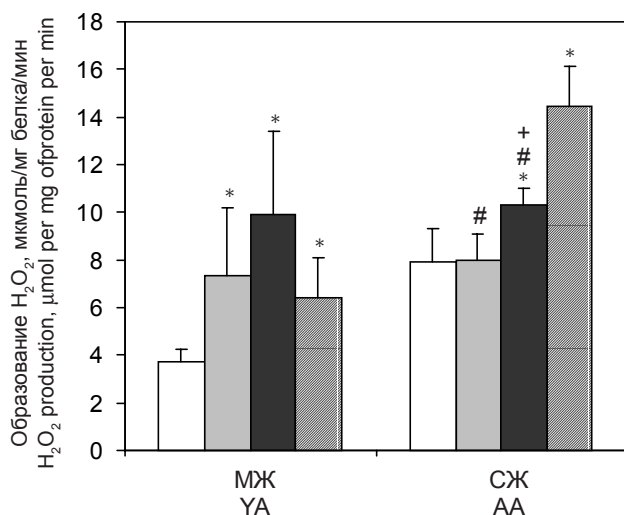


Рис. 5. Каталазная активность в ткани сердца животных: □ – контроль; ▒ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▨ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия; + – достоверно относительно 6-го воздействия.

Fig. 5. Catalase activity in animal heart tissue: □ – control; ▒ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▨ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect; + – statistically significant in respect of the 6th effect.

активностью и способны обеспечить защиту функционирования систем GSH и СОД.

Главная функция ГР в метаболизме глутатиона – восстановление GSH из окисленной формы (GS-SG). Остальные ферменты являются потребителями восстановленного глутатиона [36]. Глутатионпероксидаза является селенопротеином [34], его функция заключается в обезвреживании H₂O₂, органических и липидных пероксидов. Фермент локализован преимущественно в цитоплазме клеток и функционирует сопряженно с ГР.

Экстремальное 6-е криовоздействие у МЖ приводило к снижению в 1,3 раза глутатионпероксидазной активности (рис. 6) и 2-кратному повышению каталазной (рис. 5), в то время как глутатионредуктазная активность (рис. 7) не изменялась. После 9-го воздействия восстанавливалась глутатионпероксидазная активность, но повышалась каталазная в 2,6 раза и глутатионредуктазная – в 1,4 раза относительно контроля. Через 3 недели после ЭКВ наблюдалось устойчивое увеличение ферментативной активности в тканях сердца относительно уровней контроля, что коррелирует со снижением интенсивности перекисных процессов на этом этапе экспериментов.

В то же время у СЖ после 6-го ЭКВ глутатионпероксидазная активность снижалась до 74%, глутатионредуктазная – увеличивалась в 1,8 раза, каталазная – не изменялась. После 9-го ЭКВ

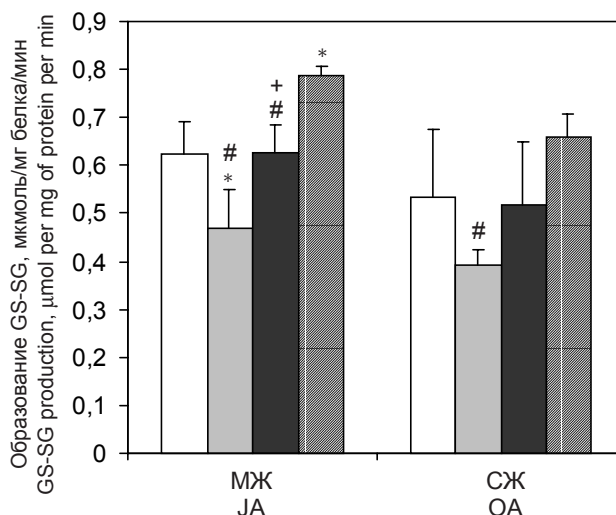


Рис. 6. Глутатионпероксидазная активность в ткани сердца животных: □ – контроль; ▒ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▨ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия; + – достоверно относительно 6-го воздействия.

Fig. 6. Glutathione peroxidase activity in animal heart tissue: □ – control; ▒ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▨ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect; + – statistically significant in respect of the 6th effect.

significantly enhanced after 9th effect and did even in greater extent after 3 observation weeks.

Glutathione-dependent anti-oxidant system comprises three dependent enzymes, there are GPO and GR among them having their own anti-oxidant activity and capable of providing protection of GSH and SOD functioning.

The main peculiarity of GR in metabolism of glutathione is recovery of GSH from oxidized form (GS-SG). Rest enzymes are consumers of reduced glutathione [36]. Glutathione peroxidase is selenoprotein [34], its function at LPO activity consists in neutralization of H₂O₂, organic and lipid peroxides. The enzyme is mainly localized in cell cytoplasm and functions in conjugation with GR.

Extreme 6th cryoeffect in young animals resulted in reduction in 1.3 times of glutathione peroxidase activity (Fig. 6) and two-fold increase in catalase one (Fig. 5), meanwhile glutathione reductase activity did not alter (Fig. 7). After 9th effect glutathione peroxidase activity recovered, but catalase one enhanced in 2.6 times and glutathione reductase activity in 1.4 times in respect of the control. In 3 weeks after ECE there was observed a stable rise in enzymatic activity in heart tissues if to compare with the control levels, that correlates with a decrease of intensity of peroxide processes at experimental stage.

At the same time in aged animals after 6th ECE glutathione peroxidase activity reduced down to 74%, glutathione reductase one increased in 1.8 times, and

глутатионпероксидаза и редуктаза соответствовали интактным показателям, а уровень каталазы повышался до 130%. На 21-й день исследований показатели ферментативной активности находились на более высоком уровне по сравнению как с их содержанием у интактных крыс, так и со значениями после 9-го воздействия, за исключением ГПО.

Выводы

Таким образом, полученные результаты позволяют предположить, что важным механизмом потенцирующего действия ЭКВ является положительное влияние на проокислительно-антиоксидантное состояние организма исследуемых животных, которое сохраняется продолжительное время после окончания воздействия. При этом наблюдаются возрастные особенности таких изменений (более высокая реактивность у МЖ). В целом, активация антиоксидантной системы сердца под влиянием ЭКВ, независимо от возраста, позволяет увеличить резистентность организма к стрессу.

Литература

1. Андреева Л.Н. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело.– 1988.– №11.– С. 41-43.
2. Бабийчук Г.А. Реакции организма на кранио-церебральную гипотермию // Криобиология.– 1988.– №2.– С. 3-8.
3. Бабийчук Г.А., Шифман М.И. Нейрохимические процессы в центральной нервной системе при гипотермии.– Киев: Наук. думка, 1989.– 152 с.
4. Бабийчук Г.А., Чижевская И.В., Марченко В.С. Моноаминергические механизмы пространственной синхронизации биоэлектрической активности охлажденного мозга // Лечебная гипотермия: Сборник науч. тр.– Харьков, 1992.– С. 22-29.
5. Бабийчук Г.А., Марченко В.С., Ломакин И.И., Белостоцкий А.В. Нейрофизиологические процессы охлажденного мозга. - Киев: Наук. думка, 1992.– 208 с.
6. Бабийчук Г.А., Марченко В.С., Пастухов Ю.Ф. и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 1. Системное введение бомбезина повышает проницаемость гематоэнцефалического барьера для нейромедиаторов // Пробл. криобиологии.– 1995.– №1.– С. 3-9.
7. Бабийчук Г. А., Марченко В.С., Шило А.В. и др. К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлажденного мозга. Сообщение 2. Ритмические холодовые воздействия повышают проницаемость гематоэнцефалического барьера для терморегуляторных нейромедиаторов // Пробл. криобиологии.– 1995.– №2.– С. 3-8.
8. Барабой В.А. Роль перекисного окисления в механизме стресса // Физиологический журнал.– 1989.– Т. 35, №5.– С. 8-16.
9. Барабой В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи современной биологии.– 1991.– Т. 111, №6.– С. 923-931.

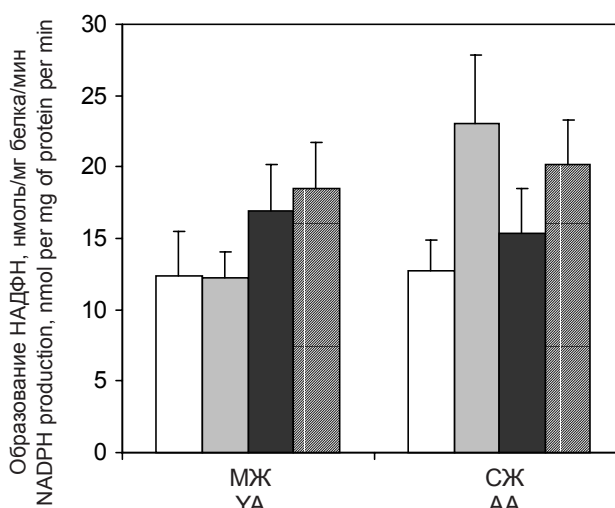


Рис. 7. Глутатионредуктазная активность в ткани сердца животных: □ – контроль; ▣ – после 6-го воздействия; ■ – после 9-го воздействия; ▤ – через 3 недели после воздействия; * – достоверно относительно контроля; # – достоверно относительно 3-х недель после воздействия; + – достоверно относительно 6-го воздействия.

Fig. 7. Glutathione reductase activity in animal heart tissue: □ – control; ▣ – after 6th effect; ■ – after 9th effect; ▤ – 3 weeks after effect; * – statistically significant in respect of control; # – statistically significant in respect of 3 weeks after effect; + – statistically significant in respect of the 6th effect.

catalase one did not change. After 9th ECE glutathione peroxidase and reductase corresponded to intact parameters and the level of catalase increased up to 130%. To the 21st experimental day the indices of enzymatic activity were at higher level in comparison both with their content in intact rats and with the values after 9th effect, except GPO.

Conclusions

Thus the obtained results enable the supposing about the main mechanism of potentiative influence of ECE, which is positive one on pro-oxidant-antioxidant state of the investigated animals, and this effect has been kept for along time after finishing the effect. Herewith age peculiarities, higher reactivity for young animals, are observed. In a whole activation of heart anti-oxidant system under ECE, age-regardless, enables the increasing of an organism stress resistance.

References

1. Andreyeva L.N. Modification of the method to examine lipid peroxidation in test with thyobarbituric acid // Lab. Delo.– 1988.– N11.– P. 41-43.
2. Babijchuk G.A. Organism's response to cranio-cerebral hypothermia // Kriobiologiya.– 1988.– N2.– P. 3-8.
3. Babijchuk G.A., Shifman M.I. Neurochemical processes in central nervous system at hypothermia.– Kiev: Naukova dumka, 1989.– 152 p.
4. Babijchuk G.A., Chizhevskaya I.V., Marchenko V.S. Monoaminergic mechanisms of spatial synchronization of

10. *Барабой В.А., Брахман И.И., Голотин В.Г., Кудряшов Ю.Б.* Перекисное окисление и стресс.– СПб: Наука, 1992.– 148 с.
11. *Барабой В.А., Жадько С.И., Кордюм Е.Л., Сидоренко П.Г.* Перекисное окисление липидов растений различного уровня организации при микрогравитационном стрессе // Изв. АН СССР, сер. Биология.– 1991.– №3.– С. 368-375.
12. *Биленко М.В.* Ишемические и реперфузионные поражения органов (молекулярные механизмы, пути предупреждения и лечения).– М.: Медицина, 1989.– 368 с.
13. *Бурлаков Е.Б., Храпова Н.Г.* Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии.– 1985.– Т. 54, №9.– С. 1540-1558.
14. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биологических мембранах.– М.: Наука, 1972.– 252 с.
15. *Гусев М.В., Гохлернер Г.Б.* Свободный кислород и эволюция клетки.– М., 1980.– 223 с.
16. *Журавлёв А.И.* Развитие идей Б.Н. Тарусова о роли цепных процессов в биологии // Биоантиокислители и регуляция метаболизма в норме и патологии.– М.: Наука, 1982.– С. 3-37.
17. *Кролюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г.* Метод определения активности каталазы // Лаб. дело.– 1988.– №1.– С. 16-19.
18. *Марченко В.С., Бабийчук Г.А., Шило А.В.* К механизмам регуляции проницаемости гематоэнцефалического барьера охлаждённого мозга. Сообщение 3. Оксид азота (II) – один из триггеров проницаемости гематоэнцефалического барьера в структуре сверхмедленной управляющей системы организма // Пробл. криобиологии.– 1995.– №3.– С. 10-19.
19. *Марченко В.С.* К концепции экзистоэнцефалической системы охлаждённого мозга. Часть 1 // Пробл. криобиологии.– 1997.– №4.– С. 14-20.
20. *Марченко В.С.* Экзистоэнцефалические механизмы повышения устойчивости организма к гипо- и гипертермии // Пробл. криобиологии.– 1998.– №1.– С. 64-65.
21. *Марченко В.С., Бабийчук В.Г., Ломакин И.И. и др.* Проницаемость гематоэнцефалического барьера для кардиотропных лекарственных веществ при краниоцеребральной гипотермии // Пробл. криобиологии.– 1998.– №2.– С. 42-45.
22. *Марченко В.С., Полищук Л.В., Бабийчук В.Г.* Влияние ритмического охлаждения на проницаемость гематоэнцефалического барьера для экзогенного норадrenalина // Пробл. криобиологии.– 2000.– №1.– С. 36-40.
23. *Марченко В.С., Бабийчук В.Г.* Кардиорегуляторная функция гематоэнцефалического барьера при резонансной гипотермии // Пробл. криобиологии.– 2001.– №4.– С. 17-29.
24. *Меерсон Ф.З.* Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.– М.: Медицина, 1984.– 269 с.
25. *Меерсон Ф.З., Заяц В.И., Булкина Л.М.* Предупреждение нарушений сократительной способности сердца при инфаркте миокарда с помощью предварительной адаптации к коротким стрессорным воздействиям // Патол. физиология и эксперим. терапия.– 1985.– №3.– С. 9-13.
26. *Сутковой Д.А.* Перекисное окисление липидов и окислительное фосфорилирование при стрессовых воздействиях и антистрессорное действие условий горных высот // Актуальные проблемы современной физиологии.– Киев: Наук. думка, 1986.– С. 229-230.
27. *Сутковой Д.А., Барабой В.А., Алфёров А.Н. и др.* Влияние продуктов перекисного окисления липидов на окислительное фосфорилирование в митохондриях печени крыс // Тез. докл. I Всесоюз. биофиз. съезда, Т. 2.– М., 1982.– С. 225-226.
28. *Тарусов Б.Н.* Первичные процессы лучевого поражения.– М.: Госатомиздат, 1962.– 96 с.
- bioelectric activity of cooled brain // Therapeutic hypothermia. Collection of scientific papers.– Kharkov, 1992.– P. 22-29.
5. *Babijchuk G.A., Marchenko V.S., Lomakin I.I., Belostotsky A.V.* Neurophysiological processes of cooled brain.– Kiev: Naukova Dumka, 1992.– 208 p.
6. *Babijchuk G.A., Marchenko V.S., Pastukhov Yu.F. et al.* On the mechanism of regulating blood brain barrier permeability of the cooled brain. Report 1. Systemic introduction of bombesin increases permeability of BBB for neuro-mediators // Problems of Cryobiology.– 1995.– N1.– P. 3-9.
7. *Babijchuk G.A., Marchenko V.S., Shilo A.V. et al.* On the mechanisms of regulating BBB permeability of the cooled brain. Report II. Rhythmic cold exposures increase BBB permeability to thermoregulatory neuromediators // Problems of Cryobiology.– 1995.– N2.– P. 3-8.
8. *Baraboy V.A.* Role of lipid peroxidation in stress mechanism // Fiziologicheskij zhurnal.– 1989.– Vol. 35, N5.– P. 8-16.
9. *Baraboy V.A.* Stress mechanisms and lipid peroxidation // Uspekhi sovremennoy biologii.– 1991.– Vol. 111, N6.– P. 923-931.
10. *Baraboy V.A., Brakhman I.I., Golotin V.G., Kudryashov Yu.B.* Lipid peroxidation and stress.– St-Petersburg: Nauka, 1992.– 148 p.
11. *Baraboy V.A., Zhadko S.I., Kordyum E.L., Sidorenko P.G.* Lipid peroxidation of plants of various organization level at microgravitation stress // Izv. AN SSSR, ser. Biologiya.– 1991.– N3.– P. 368-375.
12. *Bilenko M.V.* Ischemic and reperfusion damages of organs (molecular mechanisms, prevention and treatment ways).– Moscow: Meditsina, 1989.– 368 p.
13. *Burlakov E.B., Khrapova N.G.* Lipid peroxidation of membranes and natural antioxidants // Uspekhi khimii.– 1985.– Vol. 54, N9.– P. 1540-1558.
14. *Vladimirov Yu.A., Archakov A.I.* Lipid peroxidation in biological membranes.– Moscow: Nauka, 1972.– 252 p.
15. *Gusev M.V., Gokhlerner G.B.* Free oxygen and cell evolution.– Moscow, 1980.– 223 p.
16. *Zhuravlev A.I.* Development of B.N. Tarusov's idea on the role of chain processes in biology // Bioantioxidants and regulation of metabolism in norm and pathology.– Moscow: Nauka, 1982.– P. 3-37.
17. *Krolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G.* Method of catalase activity detection // Lab. Delo.– 1988.– N1.– P. 16-19.
18. *Marchenko V.S., Babijchuk G.A., Shilo A.V.* On the mechanism of regulating permeability of blood brain barrier of the cooled brain. Report 3. Nitrogen oxide (II) is one of the triggers of permeability for blood brain barrier in structure of ultraslow controlling system of an organism // Problems of Cryobiology.– 1995, N3.– P. 10-19.
19. *Marchenko V.S.* To the conception of existoencephalic system of the cooled brain. Part 1 // Problems of Cryobiology.– 1997.– N4.– P. 14-20.
20. *Marchenko V.S.* Existoencephalic mechanisms of increase in organism resistance to hypo- and hyperthermia // Problems of Cryobiology.– 1998.– N1.– P. 64-65.
21. *Marchenko V.S., Babijchuk V.G., Lomakin I.I. et al.* Permeability of blood brain barrier for cardiotropic medicines at craniocerebral hypothermia // Problems of Cryobiology.– 1998.– N2.– P. 42-45.
22. *Marchenko V.S., Polyschuk L.V., Babijchuk V.G.* Effect of rhythmic cooling on permeability of blood brain barrier for exogenous noradrenalin // Problems of Cryobiology.– 2000.– N1.– P. 36-40.
23. *Marchenko V.S., Babijchuk V.G.* Cardioregulatory function of blood brain barrier at resonance hypothermia // Problems of Cryobiology.– 2001.– N4.– P. 17-29.
24. *Meyerson F.Z.* Pathogenesis and prevention of stress and ischemic heart disorders.– Moscow: Meditsina, 1984.– 269p.

29. *Тєфтыєва Н.Б., Яремій І.М., Григор'єва Н.П.* Вплив постійної перстачу прямого на глутатионову систему печінки щурів за умов токсичного гепатиту // *Мед. хімія.*— 2001.— Т. 3, №4.— С. 52-55.
30. *Чернов Н.Н.* Исследование глутатионредуктазы в печени крыс / В сб. *Энзимология опухолей.*— М., 1979.— С. 96-101.
31. *Davies M., Blacker A., Schnell R.* Dithiolthione-induced alterations in hepatic glutathione and related enzymes in male mice // *Biochem. Pharmacol.*— 1987.— Vol. 36, N4.— P. 568-570.
32. *Eikow-Lastrom L., Maidens P., Orrenius S.* On the mechanisms of glutathione depletion in hepatocytes exposed to morphine and ethylmorphine // *Toxicology.*— 1986.— Vol. 42, N4.— P. 13-21.
33. *Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological, and clinical* / Ed. by E. Larsson.— New York: Raven press, 1983.— 403 p.
34. *Harris J.W., Patt H.M.* Nbn-protein sulfhydryl content and cell cycle dynamics of Ehrlich ascites tumor // *Exp. Cell Res.*— 1969.— Vol. 56, N1.— P. 134-141.
35. *Hassan H.M.* Superoxide dismutase; an antioxidant defence enzyme // *Free radicals in molecular biology. Aging and disease* / Ed. by D. Armstrong et al.— New York: Raven press, 1984.— P. 47-96.
36. *Latta K., Augustein R.C.* The purification and properties of human lens glutathione reductase // *Exp. Eur. Res.*— 1984.— Vol. 39, N3.— P. 343-354.
37. *Uysal M., Keyer-Uysal M., Kocak-Toker N., Aykac G.* The effect of chronic ethanol ingestion on brain lipid peroxide and glutathione levels in rats // *Drug and Alcohol depend.*— 1986.— Vol.18, N1.— P. 73-75.
25. *Meyerson F.Z., Zayats V.I., Bulkina L.M.* Prevention of impairments of heart contractility at myocardial infarction using preliminary adaptation to short stress effects// *Patol. Physiol i Experim. Terap.*— 1985.— N3.— P. 9-13.
26. *Sutkovoy D.A.* Lipid peroxidation and oxidative phosphorylation under stress effects and anti-stress influence of mountain height conditions // *Actual problems of current physiology.* — Kiev: Naukova dumka, 1986.— P. 229-230.
27. *Sutkovoy D.A., Baraboy V.A., Alferov A.N. et al.* Effect of lipid peroxidation products on oxidative phosphorylation in rats' liver mitochondria // *Proc. Rep. of the 1st Biophysical Congress.* Vol. 2.— Moscow, 1982.— P. 225-226.
28. *Tarusov B.N.* Primary processes of irradiation injury. — Moscow: Gosatomizdat, 1962. — 96p.
29. *Teftuyeva N.B., Yaremiy I.M., Grigoreva N.P.* Effect of base vervain tincture on glutathione system of rats' liver at toxic hepatitis// *Med. Khimiya.* — 2001. — Vol. 3, N4. — P. 52-55.
30. *Chernov N.N.* Study of glutathione reductase in rats' liver / In: *Tumor enzymology.*— Moscow, 1979.— P. 96-101.
31. *Davies M., Blacker A., Schnell R.* Dithiolthione-induced alterations in hepatic glutathione and related enzymes in male mice // *Biochem. Pharmacol.*— 1987.— Vol. 36, N4.— P. 568-570.
32. *Eikow-Lastrom L., Maidens P., Orrenius S.* On the mechanisms of glutathione depletion in hepatocytes exposed to morphine and ethylmorphine // *Toxicology.*— 1986.— Vol. 42, N4.— P. 13-21.
33. *Functions of glutathione: biochemical, physiological, toxicological, and clinical* / Ed. by E. Larsson.— New York: Raven press, 1983.— 403 p.
34. *Harris J.W., Patt H.M.* Nbn-protein sulfhydryl content and cell cycle dynamics of Ehrlich ascites tumor // *Exp. Cell Res.*— 1969.— Vol. 56, N1.— P. 134-141.
35. *Hassan H.M.* Superoxide dismutase; an antioxidant defence enzyme // *Free radicals in molecular biology. Aging and disease* / Ed. by D. Armstrong et al.— New York: Raven press, 1984.— P. 47-96.
36. *Latta K., Augustein R.C.* The purification and properties of human lens glutathione reductase // *Exp. Eur. Res.*— 1984.— Vol. 39, N3.— P. 343-354.
37. *Uysal M., Keyer-Uysal M., Kocak-Toker N., Aykac G.* The effect of chronic ethanol ingestion on brain lipid peroxide and glutathione levels in rats // *Drug and Alcohol depend.*— 1986.— Vol.18, N1.— P. 73-75.

Поступила 20.02.2006

Accepted in 20.02.2006