УДК 615.361.014.41:612.015.21:611.013.85:577.125:33:612.592 UDC 615.361.014.41:612.015.21:611.013.85:577.125:33:612.592

Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на интенсивность ПОЛ и содержание гидроперекисей липидов в тканях крыс в норме и после общего острого охлаждения

О.С. Прокопюк, А.К. Черемской, Ю.В. Никитченко, В.В. Чижевский
Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

Effect of Cryopreserved Placenta Extract on LPO Intensity and Lipid Hydroperoxide Content in Rat Tissue in Norm and After General Acute Cooling

O.S. Prokopyuk, A.K. Cheremskoy, Yu.V. Nikitchenko, V.V. Chizhevsky
Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

Изучали влияние криоконсервированного экстракта плаценты на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) и содержание гидроперекисей липидов в сыворотке крови и гомогенатах печени, сердца крыс линии Вистар в нормальных условиях и после общего острого охлаждения. Было установлено, что общее острое охлаждение животных увеличивает интенсивность ПОЛ, а также содержание гидроперекисей липидов в тканях печени, сердца и сыворотке крови крыс. Введение криоконсервированного экстракта плаценты предотвращает активацию ПОЛ во всех изученных тканях подопытных животных, что свидетельствует, по нашему мнению, об активации биохимических механизмов адаптации, компенсирующих нарушения, вызванных действием холода.

Ключевые слова: спонтанное перекисное окисление, аскорбат-индуцированное перекисное окисление, гидроперекиси липидов, криоконсервированный экстракт плаценты, общее острое охлаждение.

Вивчали вплив кріоконсервованого екстракту плаценти на інтенсивність перекисного окислення ліпідів і вміст гідроперекисів ліпідів у сироватці крові та гомогенатах печінки, серця щурів лінії Вістар у нормальних умовах і після загального гострого охолодження. Було встановлено, що загальне гостре охолодження тварин збільшує інтенсивність ПОЛ, а також вміст гідроперекисів ліпідів у тканинах печінки, серця й сироватці крові щурів. Введення кріоконсервованого екстракту плаценти запобігає активацію ПОЛ у всіх вивчених тканинах піддослідних тварин, що свідчить, за нашою думкою, про активацію біохімічних механізмів адаптації, які компенсують порушення, викликані дією холоду.

Ключові слова: спонтанне перекисне окислення, аскорбат-індуцироване окислення, гідроперекиси ліпідів, кріоконсервований екстракт плаценти, загальне гостре охолодження.

Effect of cryopreserved placenta extract on lipid peroxidation (LPO) intensity and lipid hydroperoxide content in Wistar line rats' blood serum and liver, heart homogenates under normal conditions and following general acute cooling was studied. General acute cooling of animals was found to increase the LPO intensity as well as lipid hydroperoxide content in rat liver, heart tissues and blood serum. Introduction of cryopreserved placenta extract prevents LPO activation in all studied tissues of experimental animals and we believe this testifies to the activation of biochemical adaptation mechanisms, compensating cold-caused disorders.

Key-words: spontaneous peroxidation, ascorbate-induced peroxidation, lipid hydroperoxides, cryopreserved placenta extract, general acute cooling.

Действие низких температур изменяет ряд физиологических и биохимических процессов в живом организме, в том числе реологические характеристики крови, гормональный статус и структурно-функциональное состояние биомембран [7, 11]. Среди основных механизмов холодового повреждения мембран значительную роль отводят свободнорадикальному повреждению биомолекул [3, 4, 8-10].

Показано [10], что в процессе самосогревания крыс после общего острого охлаждения (скорость охлаждения 2,4-2,8°С/мин до ректальной температуры 19-20°С) изменение интенсивности ПОЛ и содержания GSH в печени имело фазовый

Адрес для корреспонденции: Прокопюк О.С., Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.:+38 (057) 373-42-84, факс: +38 (057) 373-30-84, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

Low temperature effect changes some physiological and biochemical processes in living organism, including rheological blood characteristics, hormonal status and structural and functional biomembrane state [7, 11]. Among the main mechanisms of cold membrane damaging the considerable part is assigned to a free-radical damage of biomolecules [3, 4, 8-10].

Performed research [10] revealed that a change in LPO intensity and GSH content in liver was of phase character during rat self-warming after general acute cooling (2.4-2.8°C/min cooling rate down to 19-20°C rectal temperature). At the same time more manifested changes (a decrease in GSH concentration and increase in spontaneous NADPH and ascorbate-

Address for correspondence: Prokopyuk O.S., Institute for Problems of Cryobiology&Cryomedicine of the Natl. Acad. Sci. of Ukraine, 23, Pereyaslavskaya str.,Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 4284, fax: +380 57 373 3084, e-mail: cryo@online.kharkov.ua

характер. При этом более выраженные изменения (снижение концентрации GSH и увеличение спонтанного NADPH- и аскорбат-индуцированного ПОЛ) наблюдались через 3 ч самосогревания. В связи с тем, что именно к этому времени температура тела подопытных крыс достигала физиологических значений, предполагают, что активация ПОЛ и снижение содержания GSH в тканях экспериментальных животных ко времени выхода их из состояния гипотермии являются первичным ответом организма на холодовое воздействие [10]. С этого момента полностью включаются биохимические и физиологические механизмы компенсации нарушений, вызванных действием холода. Повышение уровня GSH (через 4 ч самосогревания крыс), по-видимому, – одна из реакций, которая через антиоксидантную систему клетки понижала интенсивность ПОЛ [10]. Однако спустя 24 ч после действия холодового фактора вновь наблюдали повышение содержания гидроперекисей липидов в сыворотке крови [10], увеличение интенсивности хемилюминесценции и скорости накопления малонового диальдегида (МДА) [9], снижение GSH [10], что свидетельствует о срыве компенсаторных реакций и, возможно, отражает развитие холодовой патологии.

Увеличение интенсивности свободнорадикального окисления липидов и снижение активности ряда антиоксидантных ферментов и содержания природных антиоксидантов в тканях экспериментальных животных в постхолодовой период отмечено в [4].

Цель данной работы – изучение состояния прооксидантно-антиоксидантного баланса в тканях сердца, печени и крови крыс через 3 ч самосогревания после общего острого охлаждения животных, получавших в течение 5 дней криоконсервированный экстракт плаценты.

Материалы и методы

В работе использовали 25 крыс-самцов линии Вистар массой 180-190 г. Эксперименты проведены в соответствии с положениями “Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей” (Страсбург, 1986 г.). Животные были разделены на 4 экспериментальные группы. Крысам 1- и 3-й групп вводили внутрибрюшинно физиологический раствор, а 2- и 4-й – криоконсервированный экстракт плаценты в дозе 0,1 мл на 100 г массы тела 1 раз в день в течение 5 дней. Затем животных 3- и 4-й групп подвергали общему острому охлаждению до ректальной температуры 19-20°C в процессе свободного плавания в воде с температурой 4°C на протяжении 5-6 мин. После

induced LPO) were observed following 3 hrs of self-warming. Due to the fact, that just up to that time the body temperature of experimental rats reached physiological values, the LPO activation and GSH content reduction in tissues of experimental animals to the time of their arousal were assumed to be the primary response of an organism on cold effect [10]. Since then biochemical and physiological mechanisms for compensating cold-caused disorders are completely triggered. Increase in GSH level (after 4 hrs of rat self-warming) is evidently one of the reactions, decreasing LPO intensity through a cell antioxidant system [10]. However after 24 hrs following the cold factor effect there were observed again an increase in lipid hydroperoxide content in blood serum [10], augmentation of chemiluminescence intensity and malone dialdehyde (MD) accumulation rate [9], GHS decrease [10], that testified to a failure of compensatory reactions and, probably, reflected cold pathology development.

An increase in free-radical lipid oxidation intensity and a decrease in activity of some antioxidant enzymes and natural antioxidants content in tissues of experimental animals during post-cold period were noted in the paper [4].

The work was aimed to study the state of prooxidant-antioxidant balance in rat heart, liver tissues and blood in 3 hrs’ self-warming after general acute cooling of animals, received cryopreserved placenta extract within 5 days.

Materials and methods

25 Wistar line male rats of 180-190 g weight were used in the work. Experiments were carried-out according to the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1986). Animals were divided in 4 experimental groups. The 1st and 3rd group’ rats received physiological solution intraperitoneally and a cryopreserved placenta extract in 0.1 ml dose per 100 g of body weight was once introduced to those of 2nd and 4th groups within 5 days. Then animals of 3rd and 4th groups underwent acute cooling down to 19-20°C rectal temperature during free swimming in 4°C water within 5-6 min. After cooling the rats warmed themselves at 20-22°C for 3 hrs.

Animals were decapitated with a slight ether narcosis. Blood was collected and serum was procured by the standard way. Liver and heart were rapidly removed and cooled in 100 mM tris-HCl buffer, pH 7.4. Cooled tissue was pressed through and homogenised (glass-teflon) in the described above medium in 1:3 ratio. Obtained homogenate was filtered through nylon and preserved on ice before using in experiment (LPO intensity) or frozen in liquid nitrogen in

охлаждения крысы самосогревались при температуре окружающей среды 20-22°C в течение 3-х часов.

Декапитацию животных проводили при легком эфирном наркозе. Кровь собирали и получали сыворотку общепринятым способом. Печень и сердце быстро извлекали и охлаждали в 100 мМ трис-HCl буфере, pH 7,4. Охлажденную ткань продавливали через пресс и гомогенизировали (стекло-тефлон) в описанной выше среде в отношении 1:3. Полученный гомогенат фильтровали через нейлон и сохраняли на льду до использования в опыте (интенсивность ПОЛ) или замораживали в жидком азоте в полиэтиленовых ампулах по 0,5 мл для последующих исследований (антиоксидантная активность). Было показано [5], что быстрое замораживание-оттаивание проб (при 37°C) существенно не влияло на активность антиоксидантных ферментов.

При исследовании интенсивности спонтанного ПОЛ среда инкубации содержала 100 мМ трис-HCl, pH 7,4 и 1,5-3,0 мг белка в 1 мл. При аскорбат-индуцированном ПОЛ среда дополнительно содержала 0,5 мМ аскорбата и 12 мкМ соли Мора. Реакцию проводили на водяной бане-качалке при температуре 37°C в течение 20 мин. Содержание МДА определяли, как описано в [10]. Спектры поглощения окрашенного продукта записывали на двулучевом спектрофотометре "Specord-UV VIS"(Германия), измеряли $\Delta E_{535-580}$ и рассчитывали количество МДА, принимая коэффициент экстинкции $1{,}56\times10^5$ $м^{-1}см^{-1}$.

Гидроперекиси липидов в гомогенатах печени и сердца крыс определяли по методу Ohkava et al. [14] с небольшими изменениями [6], а в сыворотке крови – по методу Asakova et al. [12]. Спектр поглощения окрашенного продукта записывали на двулучевом спектрофотометре "Specord-UV VIS", измеряя затем разницу экстинкций при 535 и 520 нм. Содержание гидроперекисей липидов выражали в эквивалентных количествах МДА на 1 мг белка (сердце и печень) или 1 мл сыворотки.

Содержание белка в гомогенатах печени и сердца определяли по методу Lowry в модификации Miller [13], используя человеческий сывороточный альбумин как стандарт.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента. Достоверным считали $p<0{,}05$.

Результаты и обсуждение

Данные табл. 1 свидетельствуют, что содержание гидроперекисей липидов в сыворотке крови крыс в ответ на холодовое воздействие значительно увеличивалось. Эти результаты согласуются с данными авторов [10], которые показали

polyethylene ampoules for further investigations (antioxidant activity). Rapid freeze-thawing of samples (at 37°C) was shown not to significantly affect the antioxidant enzyme activity [5].

When investigating a spontaneous LPO intensity the incubation medium contained 100 mM tris-HCL, pH 7.4 and 1.5-3.0 mg of protein in 1 ml. At ascorbate-induced LPO the medium additionally comprised 0.5 mM ascorbate and 12 μM Mohr's salt. Reaction was carried-out on shaking water bath at 37°C during 20 min. Malone dialdehyde (MDA) content was determined as described in the paper [10]. Absorption spectrum of stained product was recorded in 'Specord-UV VIS' (Germany) double-beam spectrophotometer, $\Delta E_{535-580}$ was measured and MDA number was calculated, accepting extinction coefficient of 1.56 x 10^5 m^{-1} cm^{-1}.

Lipid hydroperoxides in rat liver and heart homogenates were determined using Ohkava's method [14] with a few modifications [6] and in blood serum it was done according to Asakova's method [12]. Absorption spectrum of stained product was recorded in "Specord-UV VIS" two-beam spectrophotometer (Germany), by measuring then the difference of extinctions at 535 and 520 nm. Content of lipid hydroperoxides was expressed in MDA equivalent amounts per 1 mg of protein (heart and liver) or 1 ml of serum.

Protein content in heart and liver homogenates was determined by Miller's modification of Lowry's method [13], using human serum albumin as a standard.

Results were statistically processed using the Student's t-criterion. We considered $p<0.05$ as a statistically significant.

Results and discussion

As summarized in Table 1, the content of lipid hydroperoxides in rat blood serum significantly increased in response to cold effect. These results correspond to the data [10], demonstrating a statistically significant increase in lipid hydroperoxide content in rat blood serum in 3 and 24 hrs after general acute cooling of animals.

General acute cooling of animals, received cryopreserved placenta extract within 5 days, did not result in the augmentation of lipid hydroperoxide content in blood serum (Table 1). A normalising content of LPO products, revealed in blood of experimental rats under placenta extract effect conforms in some extent to the own data of authors' [2], reported about a positive effect of transplantation of cryopreserved placenta into patients with oligospermatism on prooxidant-antioxidant homeostasis in blood.

When investigating the lipid hydroperoxide content in rat heart homogenates there was established that cooling of animals with no preparation, resulted in a

Таблица 1. Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на содержание гидроперекисей липидов в сыворотке крови крыс в норме и после общего острого охлаждения (Sx±x; n=6-7)

Table 1. Effect of cryopreserved placenta extract on lipid hydroperoxide content in rat blood serum in norm and after general acute cooling (Sx±x; n=6-7)

Группы животных Groups of animals	Содержание гидроперекисей, нмоль/мл сыворотки Hydroperoxides content, nmol per ml of serum
1	2,85±0,25
2	3,27±0,22
3	4,06±0,19[1,2]
4	3,10±0,25[3]

Примечания: [1] – p<0,005 по сравнению с контролем; [2] – p<0,005 по сравнению со 2-й группой; [3] – p<0,005 по сравнению с 3-й группой.

Notes: [1] – p<0.005 in comparison with the control; [2] – p<0.005 in comparison with the 2nd group; [3] – p<0.005 in comparison with the 3rd one.

Таблица 2. Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на содержание гидроперекисей липидов в гомогенатах сердца и печени крыс в норме и после общего острого охлаждения (Sx±x; n=6-7)

Table 2. Effect of cryopreserved placenta extract on lipid hydroperoxide content in rat heart and liver homogenates in norm and after general acute cooling (Sx±x; n=6-7)

Группы животных Groups of animals	Гидроперекиси липидов, нмоль МДА/мг белка Lipid hydroperoxides content, nmol per mg of protein	
	Сердце Heart	Печень Liver
1	0,235±0,011	0,293±0,038
2	0,262±0,012	0,386±0,037
3	0,336±0,021[1, 2]	0,434±0,044[1]
4	0,268±0,018[3]	0,414±0,055

Примечания: [1] – p<0,005 по сравнению с контролем; [2] – p<0,005 по сравнению со 2-й группой; [3] – p<0,005 по сравнению с 3-й группой.

Notes: [1] – p<0.005 in comparison with the control; [2] – p<0.005 in comparison with the 2nd group; [3] – p<0.005 in comparison with the 3rd one.

достоверное увеличение содержания гидроперекисей липидов в сыворотке крови крыс через 3 и 24 ч после общего острого охлаждения животных.

Общее острое охлаждение животных, которым в течение 5 дней вводили криоконсервированный экстракт плаценты, не приводило к увеличению содержания гидроперекисей липидов в сыворотке крови (табл. 1). Обнаруженное в крови подопытных крыс нормализующее содержание продуктов ПОЛ при действии экстракта плаценты в какой-то мере согласуется с данными авторов [2], которые показали, что трансплантация криоконсервированной плаценты больным олигозооспермией оказывает положительное действие на прооксидантно-антиоксидантный гомеостаз в крови.

При исследовании содержания гидроперекисей липидов в гомогенатах сердца крыс установлено, что охлаждение животных, не получавших препарат, приводило к достоверному увеличению продуктов ПОЛ. У животных, получавших криоконсервированный экстракт плаценты, их содержание практически не изменялось (табл. 2).

В ответ на холодовое воздействие не обнаружено существенных изменений содержания гидроперекисей липидов и в печени крыс, получавших экстракт плаценты. Вместе с тем у животных, которым вводили физиологический раствор, содержание этих продуктов ПОЛ в печени через 3 ч после общего острого охлаждения было более чем в 1,4 раза выше, чем у контрольных крыс (табл. 2).

statistically significant increase in LPO products. Their content did not practically change in animals, received the cryopreserved placenta extract (Table 2).

No significant changes in lipid hydroperoxide content in liver of rats with placenta extract in response to cold effect were observed. However in animals with injected physiological solution the content of LPO products in liver 3 hrs following general acute cooling was more than 1.4 times higher than in the control rats (Table 2).

Thus, in all studied tissues of control animals the lipid hydroperoxide content after cold effect increased and did not practically change in experimental rats, received cryopreserved placenta extract within 5 days. The revealed effect of preparation, normalizing LPO product content can be explained by its capability to reduce the rate of free-radical lipid oxidation, but a distinct answer to this question is feasible only with measuring a direct LPO intensity in tissues.

Investigation of LPO intensity in rat liver and heart homogenates enabled to establish the fact that in response to cold effect in heart homogenates of animals, received only physiological solution, the intensity of spontaneous and ascorbate-induced LPO increased in comparison with the control (Table 3). General acute cooling of rats with injected preparation did not statistically and significantly change the intensity of spontaneous and ascorbate-induced LPO in heart in comparison with corresponding control (2nd group). At the same time of note is that the preparation itself

Таблица 3. Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на интенсивность спонтанного и аскорбат-индуцированного ПОЛ в гомогенатах сердца крыс в норме и после общего острого охлаждения (Sx±x; n=6-7)

Table 3. Effect of cryopreserved placenta extract on spontaneous and ascorbate-induced LPO intensity in rat heart homogenates in the norm and following general acute cooling (Sx±x; n=6-7)

Группы животных Groups of animals	Перекисное окисление липидов, нмоль МДА/мг белка за 20 мин инкубации Lipid peroxidation,nmol MDA/mg of protein for 20 min incubation	
	Спонтанное Spontaneous	Аскорбат-индуцированное Ascorbate-induced
1	0,350±0,012	0,74±0,17
2	0,384±0,025	2,12±0,35[1]
3	0,466±0,030[1]	2,14±0,58[1]
4	0,363±0,028[2]	1,96±0,49[1]

Примечания: [1] – p<0,005 по сравнению с контролем; [2] – p<0,005 по сравнению со 2-й группой.

Notes: [1] – p<0.005 in comparison with the control; [2] – p<0.005 in comparison with the 2nd group.

Таблица 4. Влияние криоконсервированного экстракта плаценты на интенсивность спонтанного и аскорбат-индуцированного ПОЛ в гомогенатах печени крыс в норме и после общего острого охлаждения (Sx±x; n=6-7)

Table 4. Effect of cryopreserved placenta extract on spontaneous and ascorbate-induced LPO intensity in rat liver homogenates in norm and after general acute cooling (Sx±x; n=6-7)

Группы животных Groups of animals	Перекисное окисление липидов, нмоль МДА/мг белка за 20 мин инкубации Lipid peroxidation,nmol MDA/mg of protein for 20 min incubation	
	Спонтанное Spontaneous	Аскорбат-индуцированное Ascorbate-induced
1	1,29±0,05	3,25±0,20
2	1,31±0,10	3,65 ±0,25
3	1,44±0,09	3,94±0,23[1]
4	1,34±0,14	3,77±0,17

Примечание: [1] – p<0,005 по сравнению с контролем.

Notes: [1] – p<0.005 in comparison with the control.

Таким образом, во всех изученных тканях контрольных животных содержание гидроперекисей липидов после холодового воздействия возрастало, а у опытных крыс, получавших в течение 5 дней криоконсервированный экстракт плаценты, практически не изменялось. Обнаруженное нормализующее содержание продуктов ПОЛ действие препарата может объясняться его способностью снижать скорость свободнорадикального окисления липидов, однако однозначно ответить на этот вопрос можно только при измерении непосредственно интенсивности ПОЛ в тканях.

Исследование интенсивности ПОЛ в гомогенатах печени и сердца крыс позволило установить, что в ответ на холодовое воздействие в гомогенатах сердца животных, получавших только физиологический раствор, интенсивность спонтанного и аскорбат-индуцированного ПОЛ увеличивалась по сравнению с контролем (табл. 3). Общее острое охлаждение крыс, которым вводили препарат, достоверно не изменяло интенсивность спонтанного и аскорбат-индуцированного ПОЛ в сердце по сравнению с соответствующим контролем (2-я группа). При этом следует отметить, что сам препарат несколько увеличивал накопление МДА при спонтанном и аскорбат-индуцированном ПОЛ в гомогенатах сердца (табл. 4). Обнаруж

slightly increased the MDA accumulation at a spontaneous and ascorbate-induced LPO in heart homogenates (Table 4). A revealed LPO increase and especially an ascorbate-induced one can be associated to a change in fatty acid composition of heart membranes and, in particular, to an increase in unsaturation degree of fatty acids of membrane phospholipids during cryopreserved placenta extract introduction.

When investigating LPO intensity in rat liver homogenates the general acute cooling of control animals was revealed to increase the MDA accumulation rate in 1.12 and 1.22 times at a spontaneous and ascorbate-induced LPO, correspondingly (Table 4). In this case it should be noted, that only increase in the intensity of ascorbate-induced LPO in liver was statistically significant.

Conclusions

Thus, a general acute cooling of animals increases the intensity of spontaneous and ascorbate-induced LPO, as well as a content of lipid hydroperoxides in heart, liver tissues and blood. Introducing placenta extract within 5 days prevents the LPO activation in all studied tissues of experimental animals, and we believe this testifies to the activation of biochemical mechanisms, contributing to compensation of cold-induced disorders.

женное увеличение ПОЛ, в основном аскорбат-индуцированного, может быть связано с изменением жирно-кислотного состава мембран сердца и, в частности, с увеличением степени ненасыщенности жирных кислот фосфолипидов мембран при введении криоконсервированного экстракта плаценты.

При исследовании интенсивности ПОЛ в гомогенатах печени крыс обнаружено, что общее острое охлаждение контрольных животных увеличивало скорость накопления МДА в 1,12 и 1,22 раза при спонтанном и аскорбат-индуцированном ПОЛ соответственно (табл. 4). В этом случае следует отметить, что достоверным было только увеличение интенсивности аскорбат-индуцированного ПОЛ в печени.

Выводы

Таким образом, общее острое охлаждение животных увеличивает интенсивность спонтанного и аскорбат-индуцированного ПОЛ, а также содержание гидроперекисей липидов в тканях печени, сердца и крови. Введение в течение 5дней криоконсервированного экстракта плаценты предотвращает активацию ПОЛ во всех изученных тканях подопытных животных, что свидетельствует, по нашему мнению, об активации биохимических механизмов, способствующих компенсации нарушений, вызванных действием холода.

Литература

1. *Владимиров Ю.А., Арчаков А.И.* Перекисное окисление липидов в биомембранах.– М.: Наука, 1972.– 252 с.
2. *Грищенко В.И., Геродес А.Г., Алипова Е.К. и др.* Трансплантация криоконсервированной плацентарной ткани при нарушениях сперматогенеза у мужчин // Пробл. криобиологии.– 2001.– №3.– С. 91-92.
3. *Кричковская Л.В., Донченко Г.В., Чернышов С.И. и др.* Природные антиоксиданты (биотехнологические, биологические и медицинские аспекты).– Харьков,2001.- 376с.
4. *Куликов В.Ю., Семенюк А.В., Колесникова Л.И.* Перекисное окисление липидов и холодовой фактор.– Новосибирск: Наука,1988.– С. 54-67.
5. *Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Ланкин В.З.* Ферменты утилизации гидропероксидов и O^{2-} в миокарде крыс разного возраста // Бюл. эксперим. биол. и мед.– 1985.– Т. 99, №5.– С. 563-565.
6. *Лемешко В.В., Никитченко Ю.В.* Содержание гидроперекисей липидов в биомембранах // Укр. биохим. журн.– 1986.– Т.58, №6.– С. 67-70.
7. *Липина О.В., Морозова Т.Ф.* О термотропных изменениях некоторых характеристик крови // Биофизика.– 1991.– Т.36, №3.– С. 509-510.
8. *Никитченко Ю.В., Овсянников С.Е., Мазалов В.К., Луговой В.И.* Интенсивность перекисного окисления липидов в печени крыс при остром охлаждении / Патологические аспекты действия холода на организм.– Харьков, 1989.– С. 98-101.

References

1. *Vladimirov Yu.A., Archakov A.I.* Lipid peroxidation in biomembranes.– Moscow: Nauka, 1972.– 252 p.
2. *Grischenko V.I., Gerodes A.G., Alipova E.K. et al.* Transplantation of cryopreserved placental tissue at spermatogenesis disorder in men // Problems of Cryobiology.– 2001.– N3.– P. 91-92.
3. *Krichkovskaya L.V., Donchenko G.V., Chernyshov S.I. et al.* Natural antioxidants (biotechnological, biological and medical aspects).– Kharkov, 2001.– 376 p.
4. *Kulikov V.Yu., Semenyuk A.V., Kolesnikova L.I.* Lipid peroxidation and cold factor.– Novosibirsk: Nauka, 1988.– P. 54-76.
5. *Lemeshko V.V., Nikitchenko Yu.V., Lankin V.Z.* Enzymes of utilisation of hydroperoxides and O^{2-} in rat myocardium of different age // Bull. eksp. biol. med.– 1985.– Vol. 99, N5.– P. 563-565.
6. *Lemeshko V.V., Nikitchenko Yu.V.* Content of lipid hydroperoxides in biomembranes // Ukr. Biokhim. Zhurn.– 1986.– Vol. 58, N6.– P. 67-70.
7. *Lipina O.V., Morozova T.F.* About thermotropic changes in some blood characteristics // Biofizika.– 1991.– Vol. 36, N3.– P. 509-510.
8. *Nikitchenko Yu.V., Ovsyannikov S.E., Mazalov V.K., Lugovoy V.I.* Intensity of lipid peroxidation in rat liver under acute cooling / In: Pathological aspects and cold effect on organism.– Kharkov, 1989.– P. 98-101.
9. *Nikitchenko Yu.V., Ovsyannikov S.E.* Effect of acute cooling on free-radical lipid oxidation in organs of young and old rats // Visnyk Kharkiv. Universytetu, N497. Biophysical Bulletin.– 2000.– Issue 2 (7).– P. 74-77.
10. *Ovsyannikov S.E., Nikitchenko Yu.V., Mazalov V.K., Lugovoy V.I.* Lipid peroxidation during self-warming following acute cooling of the rat organism // Problems of Cryobiology.– 1996.– N1.– P. 37-41.
11. *Emirbekov E.Z., Lvova S.P.* Mechanisms of biochemical changes under low body temperatures.– Rostov-na-Donu, 1985.– P. 79.
12. *Asakava T., Mabsushiba S.* Coloring condition of thiobarbituric acid best for detecting lipid hydroperoxides // Lipids.– 1980.–Vol.15, N3.– P. 137-140.
13. *Miller S.I.* Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem.– 1959.– Vol.31, N5.– P. 964-966.
14. *Ohkawa H., Ohishi N., Vagi K.* Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem.– 1979.– Vol. 95, N2.- P. 351-358.

Accepted in 19.07.2005

9. *Никитченко Ю.В., Овсянников С.Е.* Влияние острого охлаждения на свободнорадикальное окисление липидов в органах молодых и старых крыс // Вісник Харків. ун-ту, №497. Біофізичний вісник.– 2000.– Вип.2 (7).– С. 74-77.
10. *Овсянников С.Е., Никитченко Ю.В., Мазалов В.К., Луговой В.И.* Перекисное окисление липидов в динамике самоотогрева после острого охлаждения крыс // Пробл. криобиологии.– 1996.– №1.– С. 37-41.
11. *Эмирбеков Э.З., Львова С.П.* Механизмы биохимических изменений при низких температурах тела.– Ростов-на-Дону, 1985.– 79 с.
12. *Asakava T., Mabsushiba S.* Coloring condition of thiobarbituric acid best for detecting lipid hydroperoxides // Lipids.– 1980.– Vol.15, N3.– P. 137-140.
13. *Miller S.I.* Protein determination for large numbers of samples // Anal. Chem.– 1959.– Vol.31, N5.– P. 964-966.
14. *Ohkawa H., Ohishi N., Vagi K.* Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Anal. Biochem.– 1979.– Vol. 95, N2.- P. 351-358.

Поступила 19.07.2005