

## Влияние холодových воздействий на тиреоидную активность и спектр полипептидов средней массы у крыс

UDC 57.043:577.175.44:577.112

A.V. SHYLO\*, E.A. VENTSKOVSKAYA, A.YU. SEMENCHENKO, G.A. BABYCHUK

## Effect of Cold Exposures on Thyroid Activity and Low-Molecular Weight Polypeptides Spectrum in Rats

Известно, что устойчивость к холоду у млекопитающих формируется в течение нескольких недель постоянного пребывания на холоде. Показано, что прерывистые холодные воздействия также могут приводить к повышению устойчивости организма к холоду. Наиболее выраженные и стойкие термогенные эффекты при действии холода вызывают гормоны щитовидной железы – тироксин ( $T_4$ ) и трийодтиронин ( $T_3$ ). Было изучено изменение уровня тиреоидных гормонов и полипептидов средней массы при постоянном долговременном (ПДХВ) и ритмическом холодном воздействии (РХВ). ПДХВ приводило к резкому длительному повышению концентрации  $T_4$  по сравнению с контролем. Уровень  $T_4$  также достоверно возрастал в сыворотке крови крыс с РХВ при  $-12^\circ\text{C}$ , тогда как у крыс РХВ при  $10^\circ\text{C}$  наблюдается лишь тенденция к его повышению. Уровень трийодтиронина при изученных холодных воздействиях достоверно не изменялся. Кроме того, после ПДХВ и РХВ в плазме крови может наблюдаться определенное концентрационное перераспределение полипептидных молекул средней массы (МСМ), которое не носит патологического характера и может быть характерно для конкретного холодного воздействия. Тот факт, что повышение адаптационных способностей после РХВ при  $-12^\circ\text{C}$  происходит, как и в случае ПДХВ, на фоне активации тиреоидной системы может свидетельствовать, что эта активация является необходимым фактором для запуска механизмов, вовлеченных в формирование адаптации.

**Ключевые слова:** холодные воздействия, тиреоидные гормоны, полипептиды средней массы, крысы.

Відомо, що стійкість до холоду у ссавців формується протягом кількох тижнів при постійному перебуванні на холоді. Показано, що переривчасті холодні впливи також можуть призводити до підвищення стійкості організму до холоду. Найбільш виражені і стійкі термогенні ефекти при дії холоду викликають гормони щитовидної залози – тироксин ( $T_4$ ) і трийодтиронін ( $T_3$ ). Було вивчено зміну рівня тиреоїдних гормонів і поліпептидів середньої маси при постійному довготривалому холодному впливі (ПДХВ) і ритмічному холодному впливі (РХВ). ПДХВ призводив до різкого тривалого підвищення концентрації  $T_4$  в порівнянні з контролем. Рівень  $T_4$  також достовірно зростає у сироватці крові щурів з РХВ при  $-12^\circ\text{C}$ , тоді як у щурів з РХВ при  $10^\circ\text{C}$  спостерігається лише тенденція до його підвищення. Рівень трийодтироніну при всіх вивчених холодних впливах достовірно не змінювався. Крім того, після холодних впливів у плазмі крові може спостерігатися певний концентраційний перерозподіл поліпептидних молекул середньої маси (МСМ), що не носить патологічного характеру і може бути характерним для конкретного холодного впливу. Той факт, що підвищення адаптаційних здібностей після РХВ при  $-12^\circ\text{C}$  відбувається, як і при ПДХВ, на тлі активації тиреоїдної системи може свідчити, що така активація є необхідним фактором для запуску механізмів, залучених до формування адаптації.

**Ключові слова:** холодні впливи, тиреоїдні гормони, поліпептиди середньої маси, щури.

The resistance to cold in mammals is known as forming within several weeks of continuous exposure to cold. The intermittent cold exposures were shown as capable to result in an increased organism's resistance to cold as well. The most pronounced and stable thermogenic effects under cold exposure are caused by such thyroid hormones as thyroxine ( $T_4$ ) and triiodothyronine ( $T_3$ ). The changes in the level of thyroid hormones and low-molecular weight polypeptides under continuous long-term cold exposure (LTCE) and rhythmic cold one (RCE) have been studied. The LTCE resulted in a dramatic long-term increase in  $T_4$  concentration compared to the control level. The  $T_4$  level was also statistically and significantly increased in rat blood serum with RCE of  $-12^\circ\text{C}$ , whereas in animals with RCE of  $10^\circ\text{C}$  the only tendency to its augmentation is observed. The triiodothyronine level under the studied cold effects remained statistically and significantly unchanged. In addition, the certain concentration redistribution of low-molecular weight polypeptides (LMWP), having no pathological nature and being typical for the specific cold exposure, may be observed in blood plasma after LTCE and RCE. The very fact that an increase in adaptation capacities after RCE of  $-12^\circ\text{C}$  results, as in LTCE case as well, at the background of thyroid system activation may testify to that as an essential factor to trigger the mechanisms involved into cold adaptation formation.

**Key words:** cold exposures, thyroid hormones, low-molecular weight polypeptides, rats.

Институт проблем криобиологии и криомедицины  
НАН Украины, г. Харьков

\* Автор, которому необходимо направлять корреспонденцию:  
ул. Переяславская, 23, г. Харьков, Украина 61015; тел.: (+38 057) 372-74-35, факс: (+38 057) 373-30-84, электронная почта:  
avshilo@list.ru

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

\* To whom correspondence should be addressed: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.: +380 57 372 74 35, fax: +380 57 373 3084, e-mail: avshilo@list.ru

Выяснение молекулярных механизмов температурных адаптаций у млекопитающих является актуальной проблемой современной криобиологии. Температура – один из важнейших экологических факторов, который не только определяет скорость биохимических процессов, стабильность биологических и молекулярных структур, но и влияет на течение физиологических процессов и поведение животных [17].

Устойчивость к холоду у млекопитающих формируется в течение нескольких недель при постоянном пребывании на холоде. Метаболическое обеспечение терминальных стадий терморегуляционного рефлекса связано с активацией вегетативной нервной системы и эндокринных функций, что приводит к прямым калоригенным эффектам, опосредованным норадреналином, тироксином, глюкагоном, кортикоидами и другими эндокринными стимуляторами метаболизма [15, 20, 26, 30]. Наиболее выраженные и стойкие термогенные эффекты при действии холода вызывают гормоны щитовидной железы – тироксин ( $T_4$ ) и трийодтиронин ( $T_3$ ).

Вместе с тем показано, что прерывистые холодовые воздействия также могут приводить к повышению устойчивости организма к холоду, а холодовая нагрузка при таком способе составляет незначительную часть по сравнению с хроническим воздействием. Кроме того, чем ниже температура воздействия (выше градиент между температурой акклимации и температурой среды, в которой находится животное между холодowymi воздействиями), тем выше устойчивость животных к последующей холодовой нагрузке [7, 24].

В этой связи было высказано предположение [7], что при использовании прерывистых (ритмических) холодовых воздействий формирование адаптации идет по гипометаболическому типу и сходно с таковой у животных в природе. При постоянном долговременном холодом воздействии (ПДХВ) адаптация формируется по гиперметаболическому типу, на фоне значительного напряжения тиреоидной функции организма, приводящего к диспропорциям в гормональном статусе, повышению общих расходов энергии, повреждению периферических тканей и суставов, повышению кровяного давления и т. д. [7, 10].

Ранее показано [1, 4], что при нарушении метаболизма, вследствие влияния различных факторов на организм, в крови повышается концентрация полипептидных молекул средней массы (МСМ) с м. м. от 300 до 5000, отдельные фракции которых обладают выраженной биологической активностью: угнетают синтез ДНК, изменяют проницаемость мембран, нарушают тканевое дыхание

The elucidation of molecular mechanisms of temperature adaptation in mammals is a topical problem in current cryobiology. The temperature is one of the most important environmental factors, determining not only the rate of biochemical processes, the stability of biological and molecular structures, but affecting the course of physiological processes and animal behavior as well [17].

The resistance to cold in mammals is formed within a few weeks under a constant exposure to cold. In this case the metabolic maintenance of terminal stages of thermoregulatory reflex was shown as associated with the activation of autonomic nervous system and endocrine functions, resulting in direct calorogenic effects, mediated by norepinephrine, thyroxine, glucagon, corticoids and other endocrine metabolic stimulators [15, 20, 26, 30]. The most pronounced and resistant thermogenic effects under cold effect are caused by thyroid hormones: thyroxine ( $T_4$ ) and triiodothyronine ( $T_3$ ).

At the same time the intermittent cold exposures were shown as also capable to increase an organism's resistance to cold, and a cold load in such a way made a small part compared to a chronic effect. In addition, the lower the exposure temperature is (the gradient between acclimation temperature and that of environment, where the animal is located between cold exposures is higher), the higher the animals' resistance to following cold load is [7, 24].

In this connection it was suggested [7] that when using the intermittent (rhythmic) cold effects the adaptation formation proceeded according a hypometabolic type and was similar to that of animals in nature. Under continuous long-term cold exposure (LTCE) the adaptation is formed on hypermetabolic type, at the background of significant strain in thyroid function of an organism, resulting in hormonal status disproportion, enhance of general energy consumption, damage in peripheral tissues and joints, high blood pressure, *etc.* [7, 10].

It was shown previously [1, 4] that under disordered metabolism due to the effect of different factors on an organism there was an increase in blood of low-molecular weight polypeptides (LMWP) concentration with molecular weight from 300 to 5,000 Da, some fractions of which had a pronounced biological activity: they inhibited DNA synthesis, changed membrane permeability, impaired tissue respiration and microcirculation, caused a cytotoxic effect, participated in polyneuropathy pathogenesis. It is believed that the major source of LMWP formation is a pathological degradation of proteins. At the same time among the LMWP there were found the products of enzymatic degradation, which were close by their molecular mass to the known peptides: angiotensin and enkephalin [4]. Within this

и микроциркуляцию, оказывают цитотоксическое действие, участвуют в патогенезе полинейропатии. Как полагают, основным источником образования МСМ является патологическая деградация белков. В то же время среди МСМ обнаружены продукты ферментативной деградации, которые по своей молекулярной массе близки к известным пептидам – ангиотензину и энкефалину [4]. В этот диапазон молекулярных весов попадают простые и сложные пептиды, гликопротеиды с молекулярной массой 500–2000, такие гуморальные регуляторы, как инсулин, глюкагон, различные «тропины» и их комплексы, некоторые витамины, нуклеотиды, продукты распада фибрина, а также метаболиты, образующиеся в процессе распада эндогенных белков [1, 21]. Кроме того, в ряде случаев в крови появляются полипептидные молекулы, регулирующие/стимулирующие процессы внутриклеточной и тканевой репаративной регенерации [5, 6].

Несмотря на то, что различные виды холодовых воздействий давно используются в клинической практике как для коррекции ряда патологических состояний [19, 27], так и для повышения общей устойчивости организма [28], многие вопросы, связанные с механизмами формирования подобных эффектов, остаются не выясненными.

Цель работы – изучить изменение уровня тиреоидных гормонов и полипептидов средней массы при различных холодовых воздействиях (при длительном постоянном и ритмическом действии холода).

### Материалы и методы

Эксперименты были проведены в соответствии с Законом Украины № 3447-IV от 21.02.2006 г. «О защите животных от жестокого обращения», с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986 г.), а также согласно принципам биоэтики и нормам биологической безопасности.

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах-самцах (7–8 месяцев, масса 250–300 г), содержащихся группами по 4–5 животных, при контролируемой длительности светового режима (свет:темнота (12:12), средняя температура 22...24°C).

Для ПДХВ животных выдерживали при температуре окружающей среды 4°C в течение 30–40 дней со свободным доступом к воде и пище.

Ритмические холодовые воздействия (РХВ) осуществляли следующим образом: две группы животных в течение двух дней в светлое время суток подвергались двум сериям из 9 охлаждений по 15 мин при температуре –12°C (группа РХВ (–12°C))

range of molecular weights come simple and complex peptides, glycoproteids with molecular mass of 500–2,000 Da, such humoral regulators as insulin, glucagon, and various ‘tropines’ and their complexes, some vitamins, nucleotides, fibrin decay products, as well as metabolites formed during endogenous protein decay [1, 21]. In addition, in some cases the polypeptide molecules that regulate/stimulate the processes of intracellular and tissue reparative regeneration appear in blood [5, 6].

Despite the fact that different types of cold exposures have been used for a long time in clinical practice for both correction of some pathological states [19, 27] and increase of total organism’s resistance [28], many questions, related to the mechanisms of these effects formation remain still unclear.

The research aim was to study the changes in level of thyroid hormones and low-molecular weight polypeptides under different cold exposures (under long-term continuous and rhythmic cold effects).

### Materials and methods

The experiments were performed in accordance with the Law of Ukraine Nr. 3447-IV of 21.02.2006 ‘On protection of animals against cruelty’, the statements of the European Convention on the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes (Strasbourg, 1986), as well as according to the principles of bioethics and biosafety standards.

The experiments were carried-out in white breedless male rats (7–8 months, 250–300 g weight), kept by groups of 4–5 animals under comfortable duration of light regimen (light:dark (12:12), average temperature of 22...24°C).

For LTCE the animals were kept under environmental temperature of 4°C for 30–40 days with water and food *ad libitum*.

Rhythmic cold exposures (RCE) were performed as follows: in the daytime within 2 days two groups of animals underwent two series of 9 cooling by 15 min at –12°C (group RCE(–12°C)), or at 10°C (group RCE(+10°C)) with 45 min intervals at room temperature of 23°C [7]. All the experimental exposures began at 9.00 and ended at 17.15 after completing a series of coolings. The control animals had no cold exposures.

After completing cold exposures we assessed in animal blood serum the concentrations of thyroid hormones (total 3,5,3'-triiodothyronine (T<sub>3</sub>) and total thyroxin (T<sub>4</sub>)) by radioimmunoassay technique using the standard kits of reagents RIA-T3-ST and RIA-T4-ST (Immunotech, France).

To evaluate the LMWP spectrum there was performed the chromatography of animal blood serum in a column with 400 mm length and with inner diameter

или 10°C (группа *PXB(+10°C)*) с интервалами по 45 мин при комнатной температуре 23°C [7]. Все экспериментальные воздействия начинались в 9.00 и заканчивались в 17.15 по окончании серии охлаждения. Контрольные животные никаким холодовым воздействиям не подвергались.

После окончания холодовых воздействий в сыворотке крови животных определяли концентрацию тиреоидных гормонов (общего 3,5,3'-трийодтиронина ( $T_3$ ) и общего тироксина ( $T_4$ )) радиоиммунологическим методом, применяя стандартные наборы реактивов «РИА-Т3-СТ» и «РИА-Т4-СТ» («Immunotech», Франция).

Для оценки спектра МСМ проводили хроматографию сыворотки крови животных в колонке длиной 400 мм и с внутренним диаметром 16 мм, заполненной поливиниловым гелем «TSK-Gel Toyopearl HW-40 Fine» («Toyo Soda Manufacturing Co», Япония). Эта марка геля дает возможность разделить полипептидные молекулы в диапазоне от 10000 до 100 Да. С помощью петлевого инжектора в колонку вводили 0.2 мл сыворотки для аналитической хроматографии и 2 мл для препаративного разделения отдельных фракций МСМ. Элюирующий фосфатно-солевой буферный раствор ( $Na_2HPO_4/NaH_2PO_4$  30 ммоль/л, NaCl 100 ммоль/л, pH 7.4) подавался в колонку через петлевой инжектор перистальтическим насосом «Microperpex LKB 2132» (Швеция). Скорость потока составляла 1,6–1,7 мл/мин и измерялась по времени наполнения калиброванной пипетки объемом 5 мл. Оптическую плотность элюата регистрировали с помощью УФ-монитора «Uvicord SII LKB 2238» (Швеция) при длине волны 254 нм. Сигнал монитора записывался в виде хроматограмм 2-канальным самопишущим потенциометром «Recorder LKB 2210» (Швеция) и одновременно подавался на интегратор «Waters 746 Data Module» (США), записывающий время удерживания каждой фракции RT (retention time), площади под пиками (Area) и процентное содержание каждой фракции. Для определения молекулярной массы фракций колонка предварительно калибровалась стандартными веществами с известной молекулярной массой. Для построения калибровочного графика использовали зависимости логарифма молекулярной массы и величины  $V_e/V_0$ , где  $V_e$  – объем удерживания стандартного вещества, мл;  $V_0$  – мертвый объем колонки, мл, определяемый по времени удерживания голубого декстрана с м. м. 2 млн Да. Содержание белка определяли по методу Лоури.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с помощью парного критерия Стьюдента и непараметрического критерия Уилкоксона.

of 16 mm, filled with polyvinyl gel TSK-Gel Toyopearl HW-40 Fine (Toyo Soda Manufacturing Co, Japan). This kind of gel makes it possible to separate polypeptide molecules within the range from 10,000 to 100 Da. With the loop injector we introduced 0.2 ml of serum into the column for analytical chromatography, and 2 ml for preparative separation of some LMWP fractions. Eluting phosphate-buffered saline ( $Na_2HPO_4/NaH_2PO_4$  30 mmol/l, NaCl 100 mmol/l, pH 7.4) was applied into the column through a loop injector by peristaltic pump Microperpex LKB 2132 (Sweden). The flow rate was 1.6–1.7 ml/min and was measured by the filling time of calibrated pipette of 5 ml volume. The optical density of eluate was recorded using the UV monitor Uvicord SII LKB 2238 (Sweden) at 254 nm wavelength. Monitor signal was recorded as chromatograms by 2-channel recording potentiometer Recorder LKB 2210 (Sweden) and simultaneously was applied to integrator Waters 746 Data Module (USA), recording the retention time (RT) of each fraction, the area under the peaks (Area) and the percentage of each fraction. To determine the molecular weight of fractions the column was previously calibrated with the standard substances with known molecular weight. To plot the calibration curve we used the logarithm dependencies of molecular weight and the value  $V_e/V_0$ , where  $V_e$  was the volume of the standard substance retention per ml, and the  $V_0$  – dead volume of column per ml, measured by the retention time of blue dextran with molecular weight of 2 million Da. The protein content was determined by the Lowry assay.

The experimental data were statistically processed using the paired Student t-test and nonparametric Wilcoxon test.

## Results and discussion

Continuous long-term cold exposure resulted in a sharp increase of  $T_4$  hormones concentration compared to the control (Table). The  $T_4$  level was also statistically and significantly increased in blood serum after *RCE(-12°C)* from  $84.3 \pm 7.3$  to  $125.8 \pm 9.8$  nmol/l, whereas after *RCE(+10°C)* only a tendency to its increase (from  $84.3 \pm 7.3$  to  $103.8 \pm 16.9$  nmol/l) was observed. The triiodothyronine level in all the studied groups remained statistically and significantly unchanged.

Thus, both LTCE and RCE provided thyroid-activating effect, but under manifold repeated cold exposures this effect was less pronounced.

The activation of thyroid function under LTCE is known as contributing to enhance a calorogenic supply of an organism, to augment the mass of brown adipose tissue (BAT) and potentiate the thermogenic effects of other hormones [7, 32]. Long-term metabolism activation, occurring at the background of an increased

## Результаты и обсуждение

Постоянное долговременное холодное воздействие приводило к резкому повышению концентрации гормонов  $T_4$  по сравнению с контролем (таблица). Уровень  $T_4$  также достоверно возростал в сыворотке крови после  $PXB(-12^\circ C)$  с  $84,3 \pm 7,3$  до  $125,8 \pm 9,8$  нмоль/л, тогда как после  $PXB(+10^\circ C)$  наблюдалась лишь тенденция к его повышению (с  $84,3 \pm 7,3$  до  $103,8 \pm 16,9$  нмоль/л). Уровень трийодтиронина во всех изученных группах достоверно не изменялся.

Таким образом, как ПДХВ, так и РХВ оказывали тиреоидактивирующее влияние, но при многократно повторяющихся холодных воздействиях этот эффект был менее выражен.

Известно, что активация тиреоидной функции при ПДХВ способствует усилению калоригенного обеспечения организма, увеличению массы бурой жировой ткани (БЖТ) и потенцирует термогенные эффекты других гормонов [7, 32]. Несомненно, длительная активация метаболизма, происходящая на фоне повышения тиреоидной активности, является крайней мерой защиты от холода. При этом, наряду с термогенными эффектами, тиреоидные гормоны (ТГ) могут способствовать развитию пагубных эффектов в организме [7, 10].

Острая реакция на холодовой стресс у грызунов вначале запускает механизмы сократительного термогенеза, которые впоследствии замещаются несократительным термогенезом. Оба эти процесса находятся как под нейрональным, так и гормональным контролем, и их суммарное действие направлено на увеличение оксидативного метаболизма, продукции тепла и повышение потребления кислорода, которое сопровождается увеличением продукции кислородных радикалов и может приводить к оксидативному стрессу. При этом по мере адаптации организма к стрессовому фактору механизмы защиты от стресса заменяются механизмами адаптации [13]. Как полагают, у крыс процесс перехода организма на новый функциональный уровень занимает 21 день, хотя в ряде органов и систем (в частности системе антиоксидантной защиты) он может продолжаться и более длительное время [13].

Повышение концентрации свободных радикалов (окислительный стресс) на начальных этапах действия холода может приводить как к деградации определенных групп белков, так и возникновению соединений, играющих регуляторную или антиоксидантную роль, о чем может свидетельствовать увеличение содержания определенных фракций МСМ. В этой связи был изучен уровень МСМ в образцах плазмы крови животных после разных видов холодных воздействий.

Изменение концентрации тиреоидных гормонов после холодных воздействий  
Change in thyroid hormones concentration after cold exposures

Экспериментальные воздействия Experimental exposures	Концентрация, нмоль/л Concentration, nmol/l	
	$T_3$	$T_4$
Контроль Control	$4,5 \pm 1$	$84,3 \pm 7,3$
ПДХВ LTCE	$2,9 \pm 0,5$	$157,1 \pm 23,7^*$
PXB(-12°C) RCE(-12°C)	$4,9 \pm 0,6$	$125,8 \pm 9,8^*$
PXB(+10°C) RCE(+10°C)	$3,1 \pm 0,5$	$103,6 \pm 16,9$

**Примечание:**  $n = 6$ , \* – достоверные отличия от данных для  $T_3$ ,  $p < 0,05$ .

**Notes:**  $n = 6$ , \* – statistically significant differences comparing to the data for  $T_3$ ,  $p < 0.05$ .

thyroid activity, is undoubtedly an extreme measure of protection against cold. In this case, along with thermogenic effects the thyroid hormones (TH) may contribute to the development of a number of destructive effects in an organism [7, 10].

Acute response to cold stress in rodents initially triggers the mechanisms of shivering thermogenesis, which are then replaced by non-shivering one. These processes are under both neuronal and hormonal controls, and their total effect is aimed to increasing the oxidative metabolism, heat production and increased oxygen consumption, which is accompanied by an enhanced production of oxygen radicals and may result in oxidative stress. At the same time as the organism adapts to stress factors the defensive mechanisms against stress are replaced by adaptation mechanisms [13]. In rats the process of organism transition to a new functional level is believed to take 21 days, but in some organs and systems (particularly in antioxidant defense system), it may continue longer [13].

An increase in free radicals concentration (oxidative stress) at initial stages of cold effect can lead to both degradation of certain groups of proteins and the appearance of compounds, playing regulatory or antioxidant roles that may be testified by an increased content of certain LMWP fractions. In this respect we studied the LMWP level in the samples of animal blood plasma after different types of cold exposures.

The gel filtration of blood plasma samples of control animals resulted in LMWP separation into 10 fractions (Figure), the area under the peaks of which allowed a quantitative assessment of their content: a moderate increase of peaks in fractions 6530, 5280, 3300, 1880,

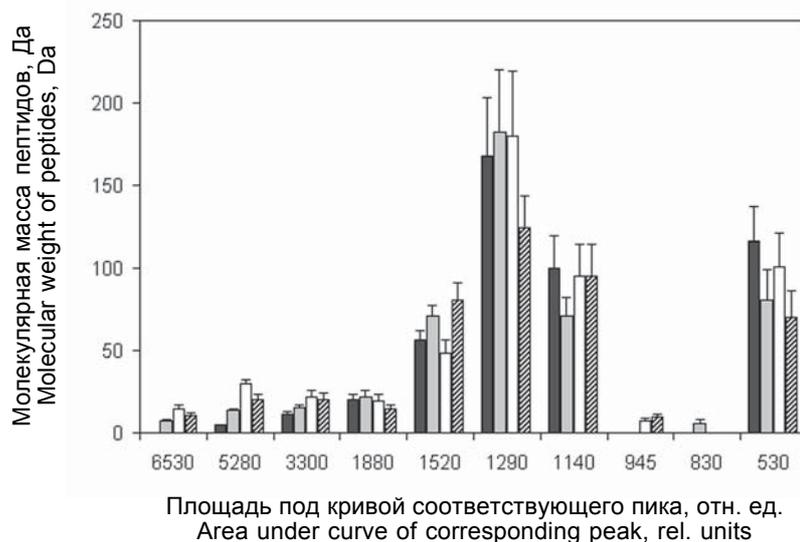
Гель-фильтрация образцов плазмы крови контрольных животных приводила к разделению МСМ на 10 фракций (рисунок), площадь под пиками которых позволила количественно оценить их содержание: умеренное увеличение величины пиков во фракциях 6530, 5280, 3300, 1880, 945, 830 и более выраженное – во фракциях 1520, 1290, 1140, 530 Да.

При сравнении гель-хроматограмм фракционирования образцов плазмы после холодовых воздействий обнаружено, что во фракциях 6530 и 945 Да образовалось незначительное количество пептидов, отсутствующих у контрольных животных, влияние ПДХВ не проявилось во фракции 945 Да, тогда как во фракциях 1290 и 530 Да концентрация молекул в крови животных после *PXB(+10°C)* была ниже, чем у контрольных. Особый интерес, по нашему мнению, представляет уменьшение площади под пиком 1290 Да после *PXB(+10°C)*, в который по м.м. попадает и ангиотензин-1, являющийся предшественником активного вазоконстриктора ангиотензина-2.

Следует отметить, что в целом изменение концентрации МСМ после холодовых воздействий незначительно отличается от контрольных значений, тогда как при ряде патологических процессов в организме [1, 4, 21] концентрации отдельных фракций значительно повышаются.

Следовательно, после холодовых воздействий (ПДХВ и РХВ) в плазме крови может наблюдаться определенное концентрационное перераспределение МСМ, которое не носит патологического характера и может быть характерно для конкретного холодового воздействия.

Главной особенностью непрерывного многодневного действия низкой температуры является то, что повышение устойчивости организма к холоду достигается ценой значительного напряжения симпатической и тиреоидной функции, диспропорциями в гормональном статусе и повышении общих расходов энергии. Однако следует отметить, что содержание ТГ меняется в динамике длительного охлаждения [11]: возрастает в первые 3 дня холодового воздействия, снижается ниже контрольных значений при пролонгировании и вновь возрастает после 21 дня акклимации. В наших исследова-



Гель-фильтрация образцов плазмы крови животных ( $n = 3$ ): ■ – контроль; ■ – ПДХВ; □ – РХВ(-12°C); ▨ – РХВ(+10°C).  
Gel filtration of animal blood plasma samples ( $n = 3$ ): ■ – control; □ – LTCE; □ – RCE(-12°C); ▨ – RCE(+10°C).

945, 830 and more pronounced one in the fractions 1520, 1290, 1140, 530 Da.

When comparing the gel chromatograms of fractionation of plasma samples after cold exposures there was revealed that in 6530 and 945 Da fractions there was formed a small number of peptides, being absent in the control animals, no LTCE effect was manifested in fraction 945 Da, while in the fractions 1290 and 530 Da the molecule concentration in blood of animals after *RCE(+10°C)* was lower than in the control ones. We believe that of special interest is the reduction of area under the peak of 1290 Da after *RCE(+10°C)*, where angio-tensin-1, being the precursor of angiotensin-2 active vasoconstricting agent corresponds to.

Of note is the fact, that integrally a change in LMWP concentration after cold exposures insignificantly differs from the control values, whereas under some pathological processes in organism [1, 4, 21] the concentration of some fractions are greatly increased.

Consequently, after cold exposures (LTCE and RCE) in blood plasma may be observed the certain redistribution of LMWP concentrations, which has no pathological nature, and may be characteristic for specific cold exposure.

The main feature of the continuous multi-day low temperature exposure is the fact that an increase in organism's resistance to cold is achieved by the expense of a significant tension in sympathetic and thyroid functions, misbalances in hormonal status and augmentation of total energy consumption. However, it should be noted that TH content changes in dynamics of long-

ниях повышение уровня ТГ также обнаружено во время действия ПДХВ.

Существуют более «мягкие» методы повышения устойчивости организма, основанные на прерывистом (ритмическом) действии холодового фактора и базирующиеся на эндогенных ритмах организма [7, 28]. Если за уровень, определяющий степень «мягкости» или температурной нагрузки, взять изменение концентрации ТГ, то полученные нами данные, демонстрирующие меньшую активацию тиреоидной системы под действием обоих видов РХВ по сравнению с ПДХВ, подтверждают данное предположение (таблица).

Тем не менее существует мнение [7], что многочисленные режимы прерывистой (ритмической) акклимации (действие фактора обычно ограничивается несколькими часами в течение суток) не имеют самостоятельного значения и являются лишь более «мягким» вариантом долговременной акклимации, а повышение устойчивости организма (например к холоду) при таких режимах менее выражено, чем при непрерывных и, по-видимому, пропорционально общему времени действия стрессового фактора.

Следует отметить, что данное утверждение базируется прежде всего на исследовании устойчивости температуры тела, выявляемой в условиях холодной камеры (воздушное охлаждение). Однако, если оценивать устойчивость организма к охлаждению в тесте «вынужденного плавания» в холодной воде, то она проявляется только после РХВ( $-12^{\circ}\text{C}$ ), повышается через 48 ч и достигает своего максимума после повторной 2-дневной серии РХВ (проведенной через месяц) [2]. В этой связи можно предположить, что для формирования устойчивости организма в ряде случаев необходимо время, в течение которого, возможно, происходит «наработка» специфических факторов, заканчиваются репаративные процессы и нормализуется тиреоидный фон.

Кроме того, повышение адаптационных способностей после РХВ( $-12^{\circ}\text{C}$ ) происходит, как и при ПДХВ, на фоне активации тиреоидной системы, свидетельствующее о вовлечении тиреоидной системы в запуск механизмов, отвечающих за формирование адаптации, что согласуется с ранее полученными данными [10].

Холодовое окружение стимулирует продукцию тепла за счет сократительного и несократительного термогенеза. При этом тиреоидные гормоны оказывают множественные влияния на облигатный термогенез во многих органах за исключением мозга [15, 16, 18, 20, 22, 25, 29]: стимулируют общий рост животных и увеличение массы БЖТ на фоне

term cooling [11]: it increases in the first 3 days of cold exposure, reduces down the control values during prolongation and increases again after 21 days of acclimation. In our researches the TH level increase was also revealed during LTCE action.

There are 'milder' methods to increase the organism's resistance, based on an intermittent (rhythmic) action of cold factor and based on endogenous rhythms of organism [7, 28]. If for the level, determining the degree of 'mildness' or temperature load we assume a change in TH concentration, then the obtained data, showing lower activation of thyroid system under the action of both RCE types compared to LTCE, confirm this assumption (Table).

Nevertheless, it is believed [7] that the numerous modes of intermittent (rhythmic) acclimation (action of factor is usually limited by a few hours during a day) have no independent value, and are only 'softer' version of long-term acclimation and an increase in organism's resistance (to cold, for example) under such regimens is less pronounced than under continuous ones and, apparently, is proportional to the total time of stress factor duration.

It should be noted that this supposition is primarily based on the study of body temperature resistance, revealed under cold chamber (air cooling) conditions. However, if we evaluate the organism's resistance to cooling in the forced-swimming test in cold water, it manifests only after the RCE( $-12^{\circ}\text{C}$ ), increases in 48 hrs and reaches its maximum after the repeated two day series of RCE (realized in a month) [2]. In this connection we can assume that the formation of organism's resistance in some cases takes some time, during which, possibly occurs the accumulation of specific factors, completion of reparative processes and thyroid background normalization.

In addition, an increase in adaptive capacities after the RCE( $-12^{\circ}\text{C}$ ) occurs, as at LTCE as well, at the background of thyroid system activation, testifying to the involvement of thyroid system in triggering the mechanisms responsible for adaptation formation, that is consistent with the data of F.F. Sultanov and V.I. Sobolev[10].

Cold environment stimulates the heat production due to the shivering and non-shivering thermogenesis. At the same time thyroid hormones cause the multiple effects on obligate thermogenesis in many organs except brain [15, 16, 18, 20, 22, 25, 29]: they stimulate a total growth of animals and BAT weight augmentation at the background of chronic effect of cold, potentiate thermogenic effects of other hormones, but do not affect the BAT weight in heat. Early studies of non-shivering thermogenesis with use of the regimen of long-term acclimation to cold there was established

хронического действия холода, потенцируют термогенные эффекты других гормонов, но не влияют на массу БЖТ в тепле. В самом начале исследований несократительного термогенеза с использованием режима долговременной акклимации к холоду было установлено, что продукция тиреоидных гормонов возрастает при холодовой экспозиции [14] на фоне развивающихся в течение нескольких дней гипертрофии щитовидной железы, изменений в цитоструктуре её фолликулярного эпителия и увеличения йодпоглотительной функции [10, 30]. При этом было показано, что гормоны щитовидной железы заметно отличаются по своей термогенной активности: в различных вариантах сравнения *in vivo* и *in situ*  $T_3$  приблизительно в 5–7 раз быстрее и в 1,5–2 раза сильнее, чем  $T_4$ , стимулирует повышение метаболизма [13]. Следовательно, термогенная функция как стимулятор должна предпочитать  $T_3$ , который в периферических тканях образуется из  $T_4$  благодаря ферменту тироксин-5'-деиодиназе (ТДИ). Следует отметить, что ТДИ из БЖТ, в отличие от ТДИ печени и почек, имеет иную первичную структуру (не содержит селен-цистеина), но главное ее отличие состоит в способности в ответ на холодовое воздействие резко (в десятки раз) увеличивать и поддерживать высокий уровень активности на протяжении всего периода акклимации [10, 20, 31]. Повышение активности ТДИ обусловлено увеличением симпатической стимуляции БЖТ во время действия холода, а повышенный уровень  $T_4$  в крови обеспечивает необходимый уровень термогенной функции при холодовых воздействиях.

При изучении динамики ускоренной акклимации (основанной на ритмическом предъявлении холодого стимула) у крыс, кроликов и леммингов было установлено, что в процессе многократного повторения холодовых воздействий формируется терморегуляционный условный рефлекс на время и обстановку эксперимента, что свидетельствует об участии центральных механизмов в процессах ускоренной акклимации. Формирование такого рефлекса обычно объясняется снижением общих проявлений неспецифической реакции «тревоги» и угасанием ориентировочной реакции [8, 9], что проявляется в уменьшении активности вегетативной нервной системы и отражается в снижении частоты дыхания и сердечных сокращений. На определенную зависимость быстрого повышения холодоустойчивости от участия центральных нервных механизмов указывают также данные об угасании ЭЭГ реакции пробуждения в ретикуло-корковой и лимбической системах мозга в динамике повторных циклов охлаждения и о блокировании развития

the fact, that the production of thyroid hormones increased during cold exposure [14] at the background of developing within a few days hypertrophy of thyroid gland, changes in cytostructure of its follicular epithelium and increase of iodine-absorbing function [10, 30]. At the same time the thyroid hormones were shown as significantly different by their thermogenic activity: in different variants of comparison *in vivo* and *in situ* the  $T_3$  approximately 5–7 times faster and 1.5–2 times stronger than  $T_4$  stimulated the metabolism augmentation [13]. Consequently the thermogenic function as stimulator should prefer  $T_3$ , which is formed in peripheral tissues from  $T_4$  due to the enzyme thyroxine-5'-deiodinase (TDI). Of note is the fact, that the TDI from BAT, in contrast to TDI of liver and kidney, has a different primary structure (does not contain selenium-cysteine), but its main difference is the ability of responding to cold exposure by a sharp (ten times) increase and maintenance of a high level of activity throughout the whole period of acclimation [10, 20, 31]. The augmentation of TDI activity is stipulated by an increase in BAT sympathetic stimulation during cold exposure, and an elevated level of  $T_4$  in blood provides a necessary level of thermogenic function under cold exposures.

When studying the dynamics of accelerated acclimation (based on rhythmic presentation of cold stimulus) in rats, rabbits and lemmings there was established that during multifold repetitions of cold exposures there was formed a thermoregulatory conditioned reflex for time and situation of the experiment, indicating to the involvement of central mechanisms in accelerated acclimation processes. The formation of such a reflex is usually explained by a reduction of general symptoms of non-specific 'alarm' reaction and the fading of orientation response [8, 9], that manifests in a decreased activity of autonomic nervous system and is reflected in the reduction of respiratory and heart rates. The EEG data about the fading in arousal response in reticular-cortical and limbic brain systems in dynamics of repeated cycles of cooling and blocking of adaptive rearrangement development, when applying electroconvulsive shock, point also to the certain dependence of rapid increase in cold resistance on the participation of central nervous mechanisms [7]. Our data on a change in sleep occurrence after RCE may also testify to a decrease in emotional stress and nonspecific 'alarm' reaction manifestations [3].

In addition, it was shown that after 3 days of accelerated acclimation the epinephrine excretion with urine in rats reduced by 4 times if compared with the control animals, that also pointed to the inhibition of emotional component of organism's stress response to cooling [23]. In this connection we suggested that

адаптивных перестроек при применении электросудорожного шока [7]. О снижении эмоционального напряжения и проявлений неспецифической реакции «тревоги» могут свидетельствовать и наши данные по изменению представленности сна после РХВ [3].

Кроме того, было показано, что после 3 дней ускоренной акклимации экскреция адреналина с мочой у крыс снижается в 4 раза в сравнении с контрольными животными, что также указывает на угнетение эмоционального компонента стрессовой реакции организма на охлаждение [23]. В связи с этим было высказано предположение, что изменения симпатoadренальной активности могут оказывать существенное влияние на кожные вазомоторные реакции [23] и подобные изменения вместе с формированием более адекватного терморегуляторного поведения способствуют уменьшению теплопотерь и увеличению теплоизоляции на холоде. Вероятно, такое повышение теплоизоляции может быть достаточным для повышения устойчивости температуры тела без дополнительного возрастания терморегуляторной метаболической реакции и изменения структуры термогенеза.

Однако создается впечатление, что это повышение имеет свои ограничения и оказывается недостаточным при увеличении процессов теплоотдачи, связанных с оценкой холодовой устойчивости организма в тесте «вынужденного плавания» в холодной воде [2]. Кроме того, эта устойчивость проявляется через определенное время после окончания РХВ, и подтверждает мнение, что формирование адаптационных эффектов происходит не только во время холодовых воздействий, в промежутках между ними, но и в последующий период до тестового воздействия [7] и, вероятно, связано с необходимостью наработки специфических факторов, необходимых для перевода организма на новый функциональный уровень.

## Выводы

Для формирования адаптационного ответа, по крайней мере на начальных этапах холодового воздействия, необходима активация тиреоидной системы. В отличие от ПДХВ, при РХВ тиреоидная система реагирует более «экономно», что проявляется в менее выраженном повышении уровня  $T_4$ . Отсутствие выраженных изменений в спектре МСМ после изученных холодовых воздействий может указывать на то, что активация метаболизма не носит патологического характера при РХВ, а синтез специфических факторов, если и происходит, то лежит в области относительно высоких молекулярных масс, так как анализ полипептидных спектров диапазона до 10000 Да увеличения концентраций не выявил.

the changes in sympathoadrenal activity might cause a significant effect on cutaneous vasomotor responses [23] and the similar changes together with the formation of a more adequate thermoregulatory behavior contributed to the reduction of heat loss and increase in thermal insulation in cold. Probably such an increase in thermal insulation may be sufficient to increase the body temperature resistance without additional rise of thermoregulatory metabolic response and change in thermogenesis structure.

However, it seems that this augmentation has its limitations and occurs to be insufficient in increasing the heat transfer processes, associated with the evaluation of organism's cold resistance in the forced-swimming test in cold water [2]. In addition this resistance is manifested in a certain time after RCE completion, and confirms the opinion, that the formation of adaptation effects occurs not only during cold exposures and between them, but also in the following period up to the test impact [7] and is probably related to the necessity in accumulation of specific factors required for the organism transfer into a new functional level.

## Conclusions

The activation of thyroid system is necessary in at least initial stages of cold exposure for an adaptive response formation. In contrast to LTCE, under RCE the thyroid system responds in a more 'efficient' way, manifesting in a less pronounced increase in  $T_4$  level. The absence of pronounced changes in LMWP spectrum after the studied cold exposures may indicate to the fact, that the metabolism activation is not of pathological character under RCE, and the synthesis of specific factors, if even it occurs, is in the area of relatively high molecular weights, as the analysis of polypeptide spectra within the range up to 10,000 Da did not reveal any concentration rise.

## References

1. Belous A.M., Mohamed A.N., Semenchenko A.Yu., Yavorskaya V.A. Study of 'low molecular weight' peptide level in blood plasm of patients with different forms of acute cerebrovascular disease // *Doklady NAN Ukrainy*. – 1997. – N8. – P. 177–181.
2. Ventskovskaya E.A., Shilo A.V., Babijchuk G.A. Change in adaptation capabilities of rats after rhythmic cold effects // *Visnyk Problem Biologii i Medytsyny*. – 2010. – N2. – P. 38–43.
3. Ventskovska O.A., Shilo A.V., Babijchuk G.A. Sleep after rhythmic cold effects // *Problems of Cryobiology*. – 2011. – Vol. 21, N1. – P. 10–21.
4. Vlydyko A.S., Levitsky C.E., Poddubnaya L.P., Gabrielyan I.I. Middle molecules and problem of endogenous intoxication in critical states of different etiology // *Anesteziologiya i Reanimatologiya*. – 1987. – N2. – P. 37–40.

## Литература

1. Белоус А.М., Мохамед А.Н., Семенченко А.Ю., Яворская В.А. Исследование уровня пептидов «средних молекул» в плазме крови больных с различными формами острых нарушений мозгового кровообращения // Доповіді НАН України. – 1997, №8. – С. 177–181.
2. Венцовская Е.А., Шило А.В., Бабийчук Г.А. Изменение адаптационных способностей крыс после ритмических холодовых воздействий // Вісник проблем біології і медицини. – 2010. – №2. – С. 38–43.
3. Венцовская Е.А., Шило А.В., Бабийчук Г.А. Сон после ритмических холодовых воздействий // Проблемы криобиологии. – 2011. – Т. 21, №1. – С. 10–21.
4. Владыко А.С., Левицкий С.Э., Поддубная Л.П., Габриэлян И.И. Срединные молекулы и проблема эндогенной интоксикации при критических состояниях различной этиологии // Анестезиология и реаниматология. – 1987. – №2. – С. 37–40.
5. Гальченко С.Є. Екстракти криоконсервованих фрагментів ксеноорганів: одержання та біологічна дія // Проблемы криобиологии. – 2005. – Т. 15, №3. – С. 403–406.
6. Ермакова Н.Ю., Шиндер А.В., Рошаль О.Д. та ін. Вплив екстрактів тваринного походження на загоєння холодкових ран // Світ медицини та біології. – 2010. – №1. – С. 32–36.
7. Пастухов Ю.Ф., Максимов А.Л., Хаскин В.В. Адаптация к холоду и условиям Субарктики: проблемы термофизиологии. – Магадан: СВНЦ ДВО РАН, 2003. – Т. 1. – 373 с.
8. Слоним А.Д. Частная экологическая физиология млекопитающих. – М.-Л.: Изд-во АН СССР, 1962. – 498 с.
9. Слоним А.Д. Химическая регуляция и структура эффекторной части терморегуляционного рефлекса // Физиол. журн. СССР. – 1964. – Т. 50, №8. – С. 117–125.
10. Султанов Ф.Ф., Соболев В.И. Гормональные механизмы температурной адаптации. – Ашхабад: Ылым, 1991. – 216 с.
11. Физиология терморегуляции. Сер. Руководство по физиологии / Под ред. К.П. Иванова, О.П. Минут-Сорохотиной, Е.В. Майстрах. – Л.: Наука, 1984. – 470 с.
12. Bernal J., Rey E.F. T3/T4 ration and L-glycerophosphate dehydrogenase activity in intact rats exposed to a cold environment // Hormonal. Metabol. Res. – 1995. – Vol. 69. – P. 65–73.
13. Blagojevic D. Antioxidant system in supporting environmental and programmed adaptation to low temperatures // CryoLetters. – 2007. – Vol. 28, №3. – P. 137–150.
14. Cottle W.H., Carlson L.D. Turnover of thyroid in cold exposed rats determined by radioactive iodine studies // Endocrinology. – 1956. – Vol. 59, №1. – P. 1–11.
15. Fregly M.J. Activity of the hypothalamic-putuitary-thyroid axis during exposure to cold // Thermoregulation: Physiology and Biochemistry / Eds. E. Schonbaum, P. Lomax. – N.Y.: Pergamon. – 1990. – P. 437–494.
16. Hampl R., Starka L., Jansky L. Steroids and thermogenesis // Physiol. Res. – 2006. – Vol. 55, №2. – P. 123–131.
17. Hochachka P.W., Somero G.N. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. – Oxford, Oxford University Press, 2002. – 466 p.
18. Hulbert A.J. Thyroid hormones and their effects: a new perspectives // Biol. Rev. Camb. Phyl. Soc. – 2000. – Vol. 75, №4. – P. 519–631.
19. International brain hypothermia symposium. Book of abstracts. – Tokyo. – Japan, 2004. – 146 p.
20. Jansky L. Humoral thermogenesis and its role in maintaining energy balance // Physiol. Res. – 1995. – Vol. 75, №2. – P. 237–259.
21. Karelin A.A., Blishchenko E.Yu., Ivanov V.T. A novel system of peptidergic regulation // FEBS Letter. – 1998. – Vol. 428, №1–2. – P. 7–12.
22. Kim B. Thyroid hormone as a determinant of energy expenditure and the basal metabolic rate // Thyroid. – 2008. – Vol. 18, №2. – P. 141–144.
23. Galchenko S.E. Extracts of cryopreserved fragments of xenorgans: procurements and biological effect // Problems of Cryobiology. – 2005. – Vol. 15, N3. – P. 403–406.
24. Ermakova N.Yu., Shinder A.V., Roshal O.D. et al. Effect of extracts of animal origin on cold wounds healing // Svit Medytsyny ta Biologii. – 2010. – N1. – P.32–36.
25. Pastukhov Yu.F., Maksimov A.L., Khaskin V.V. Adaptation to cold and Subarctic Region conditions: problems of thermophysiology. – Magadan: North-East Scientific Center, Far Eastern Branch of Russian Academy of Sciences, 2003. – Vol. 1. – 373 p.
26. Slonim A.D. Private ecological physiology of mammals: Moscow-Leningrad: Publishing House of Academy of Sciences of USSR, 1962. – 498 p.
27. Slonim A.D. Chemical regulation and structure of effector part of thermoregulative reflex // Fiziol. Zhurn. USSR. – 1964. – Vol. 50, N8. – P. 117–125.
28. Sultanov F.F., Sobolev V.I. Hormonal mechanisms of temperature adaptation. – Ashgabat: Ylym, 1991. – 216 p.
29. Physiology of thermoregulation. In Series 'Manual on physiology'. – Leningrad: Nauka, 1984. – 470 p.
30. Bernal J., Rey E.F. T3/T4 ration and L-glycerophosphate dehydrogenase activity in intact rats exposed to a cold environment // Hormonal. Metabol. Res. – 1995. – Vol. 69. – P. 65–73.
31. Blagojevic D. Antioxidant system in supporting environmental and programmed adaptation to low temperatures // CryoLetters. – 2007. – Vol. 28, N3. – P. 137–150.
32. Cottle W.H., Carlson L.D. Turnover of thyroid in cold exposed rats determined by radioactive iodine studies // Endocrinology. – 1956. – Vol. 59, N1. – P. 1–11.
33. Fregly M.J. Activity of the hypothalamic-putuitary-thyroid axis during exposure to cold // Thermoregulation: Physiology and Biochemistry / Eds. E. Schonbaum, P. Lomax. – N.Y.: Pergamon. – 1990. – P. 437–494.
34. Hampl R., Starka L., Jansky L. Steroids and thermogenesis // Physiol. Res. – 2006. – Vol. 55, N2. – P. 123–131.
35. Hochachka P.W., Somero G.N. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution. – Oxford, Oxford University Press, 2002. – 466 p.
36. Hulbert A.J. Thyroid hormones and their effects: a new perspectives // Biol. Rev. Camb. Phyl. Soc. – 2000. – Vol. 75, N4. – P. 519–631.
37. International brain hypothermia symposium. Book of abstracts. – Tokyo. – Japan, 2004. – 146 p.
38. Jansky L. Humoral thermogenesis and its role in maintaining energy balance // Physiol. Res. – 1995. – Vol. 75, N2. – P. 237–259.
39. Karelin A.A., Blishchenko E.Yu., Ivanov V.T. A novel system of peptidergic regulation // FEBS Letter. – 1998. – Vol. 428, N1–2. – P. 7–12.
40. Kim B. Thyroid hormone as a determinant of energy expenditure and the basal metabolic rate // Thyroid. – 2008. – Vol. 18, N2. – P. 141–144.
41. Le Blanc J. Hormonal control of thermogenesis // Nonshivering thermogenesis / Ed. L. Jansky. – Prague, 1971. – P. 99–112.
42. Le Blanc J. Adaptation of man to cold // Strategies in cold. – Acad. Press, 1978. – P. 695–715.
43. Le Blanc J. Mechanisms of adaptation to cold // Int. J. Sports Med. – 1992. – Suppl. 1. – P. S169–172.
44. Launay J.-C., Savourey G. Cold adaptations // Industrial Health. – 2009. – Vol. 47. – P. 221–227.
45. MacLellan C. L., Clark D. L., Silasi G., Colbourne F. Use of prolonged hypothermia to treat ischemic and hemorrhagic stroke // J. Neurotrauma. – 2009. – Vol. 26, N3. – P. 313–323.
46. Makinen T.M. Human cold exposure, adaptation and performance in a northern climate // Am. J. Hum. Biol. – 2007. – Vol. 19, N2. – P. 155–164.
47. Rothwell N.J. Hypothalamus and thermogenesis // Energy metabolism: tissue determinants and cellular corollaries / Eds. J.M. Kinney, H.N. Tucher. – N.Y.: Raven, 1992. – P. 229–245.

23. *Le Blanc J.* Hormonal control of thermogenesis // Nonshivering thermogenesis / Ed. L. Jansky. – Prague, 1971. – P. 99–112.
24. *Le Blanc J.* Adaptation of man to cold // Strategies in cold. – Acad. Press, 1978. – P. 695–715.
25. *Le Blanc J.* Mechanisms of adaptation to cold // Int. J. Sports Med. – 1992. – Suppl. 1. – P. S169–172.
26. *Launay J.-C., Savourey G.* Cold adaptations // Industrial Health. – 2009. – Vol. 47. – P. 221–227.
27. *MacLellan C. L., Clark D. L., Silasi G., Colbourne F.* Use of prolonged hypothermia to treat ischemic and hemorrhagic stroke // J. Neurotrauma. – 2009. – Vol. 26, №3. – P. 313–323.
28. *Makinen T.M.* Human cold exposure, adaptation and performance in a northern climate // Am. J. Hum. Biol. – 2007. – Vol. 19, №2. – P. 155–164.
29. *Rothwell N.J.* Hypothalamus and thermogenesis // Energy metabolism: tissue determinants and cellular corollaries / Eds. J.M. Kinney, H.N. Tucher. – N.Y.: Raven, 1992. – P. 229–245.
30. *Sellers E. A., Flattery K.V.* Hormones in regulation in body temperature // Pharmacology of Thermoregulation / Eds. E. Schonbaum, P. Lomax. – Basel, Switzerland: Karger. – 1972. – P. 57–71.
31. *Silva J.E.* Hormonal control of thermogenesis and energy dissipation // Trends Endocrinol. Metab. – 1993. – Vol. 4. – P. 25–32.
32. *Yen P. M.* Physiological and molecular basis of thyroid hormone action // Physiol. Rev. – 2001. – Vol. 81, №3. – P. 1097–1142.

*Accepted 22.02.2012*

*Поступила 22.02.2012*