
ИЗУЧЕНИЕ И РЕАБИЛИТАЦИЯ ЭКОСИСТЕМ

THE STUDY AND REHABILITATION OF ECOSYSTEMS

УДК 577.352.33:577.359:504.055

ВЛИЯНИЕ ХОЛОДОВОГО ФАКТОРА И ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СТРУКТУРНОЕ СОСТОЯНИЕ ПЛАЗМАТИЧЕСКИХ МЕМБРАН ТИМОЦИТОВ КРЫС

И. В. ПУХТЕЕВА¹⁾, Н. В. ГЕРАСИМОВИЧ¹⁾, М. С. МАТЯШ¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет,
Международный государственный экологический институт им. А. Д. Сахарова,
ул. Долгобродская, 23/1, 220070, г. Минск, Беларусь

Результаты проведенных исследований по изучению комбинированного действия ацетата свинца и низких температур на структурное состояние плазматической мембраны клеток показали, что в указанных условиях происходит модификация структурно-функционального состояния плазматических мембран клеток тимуса крыс по сравнению с отдельным действием повреждающих факторов. При воздействии ацетата свинца на тимоциты происходит переориентация компонентов мембраны, что приводит к изменению ее конфигурации, то есть текучести, а также запускаются процессы перекисного окисления липидов, при которых происходит уменьшение содержания полиненасыщенных жирных кислот мембранных фосфолипидов и изменяются физико-химические свойства мембран, что играет важную физиологическую роль в адаптации различных организмов к внешним

Образец цитирования:

Пухтеева И. В., Герасимович Н. В., Матяш М. С. Влияние холодного фактора и тяжелых металлов на структурное состояние плазматических мембран тимоцитов крыс // Журн. Белорус. гос. ун-та. Экология. 2017. № 1. С. 31–39.

For citation:

Puhteeva I. V., Gerasimovich N. V., Matyash M. S. The influence of the cold factor and heavy metals on the structural state of plasma membranes of rats thymocytes. *J. Belarus. State Univ. Ecol.* 2017. No. 1. P. 32–39 (in Russ.).

Авторы:

Ирина Викторовна Пухтеева – старший преподаватель кафедры экологической медицины и радиобиологии.

Наталья Васильевна Герасимович – кандидат биологических наук, доцент; доцент кафедры экологической медицины и радиобиологии.

Максим Сергеевич Матяш – студент V курса факультета экологической медицины.

Authors:

Irina V. Puhteeva, senior lecturer of the chair of environmental medicine and radiobiology.

puhteeva@mail.ru

Natalya V. Gerasimovich, PhD (biological), associate professor; associate professor of the chair of environmental medicine and radiobiology.

nvgerasimovich@mail.ru

Maksim S. Matyash, 5 years student of the faculty of environmental medicine.

m.m.s.96@list.ru

экстремальным воздействиям. Цель работы – изучение влияния сочетанного действия ацетата свинца и низких температур на структурно-функциональные характеристики плазматических мембран тимоцитов экспериментальных животных. Объектом исследования являлись тимоциты экспериментальных животных (крыс). Изучение изменения структуры мембран тимоцитов при низкой температуре позволит дополнить сведения о развитии адаптивного ответа и реакции организма на низкие и сверхнизкие температуры, добиться определенных успехов не только в медицине, но и в современных развивающихся науках и их направлениях.

Ключевые слова: температура; полярность; микровязкость; аннулярный липид; липидный бислой; флуоресцентный зонд пирен; ацетат свинца.

THE INFLUENCE OF THE COLD FACTOR AND HEAVY METALS ON THE STRUCTURAL STATE OF PLASMA MEMBRANES OF RATS THYMOCYTES

I. V. PUHTEEVA^a, N. V. GERASIMOVICH^a, M. S. MATYASH^a

*^aBelarusian State University, International Sakharov Environmental Institute,
Dolgobrodskaya street, 23/1, 220070, Minsk, Belarus*

Corresponding author: puhteeva@mail.ru

The purpose of this work is to study the effect of combined action of lead acetate and low temperatures on the structural and functional characteristics of plasma membranes of thymocytes from experimental animals. The object of the study was thymocytes of experimental animals (rats). Under the influence of low temperatures on the cell, damage and changes in plasma membranes are associated with phase transitions in the lipid component. The results of the conducted studies of the combined action of lead acetate and low temperatures on the structural state of the plasma membrane of cells showed that under these conditions, the structural and functional state of the plasma membranes of rat thymus cells is modified in comparison with the separate effect of damaging factors. According to the results obtained, with the action of lead acetate on thymocytes, a reorientation of the membrane components takes place, which leads to the change in its configuration, i.e. fluidity, the processes of lipid peroxidation are also triggered, in which the content of polyunsaturated fatty acids of membrane phospholipids decreases and physicochemical properties of membranes change, which plays an important physiological role in the adaptation of various organisms to external extremes. The study of changes in the structure of thymocyte membranes at a low temperature will allow us to better understand the adaptive response and the body's response to low and ultra-low temperatures, to achieve certain successes not only in medicine but also in modern developing sciences and their directions.

Key words: temperature; polarity; microviscosity; annular lipids; lipid bilayer; fluorescent probe pyren; lead acetate.

Введение

Тесная взаимосвязь физических, химических и биологических явлений позволяет утверждать, что исследование влияния низких температур и солей тяжелых металлов может привести к фундаментальным открытиям, что необходимо для создания технологий будущего. Влияние низких и сверхнизких температур на организм и клетки не изучено до конца. Процессы, происходящие при охлаждении и попадании в клетку тяжелых металлов, являются основными для изучения различных направлений биологии, космической биологии, медицины, физики, нейрохирургии и других наук. Изучение механизмов индивидуальной устойчивости организма к неблагоприятному действию различных физических факторов имеет большое социальное и медицинское значение. На основании данных современной науки можно утверждать, что различные представители животного мира, а также органы, ткани и клетки по-разному реагируют на действие холода [1].

Опасность свинца для человека определяется его значительной токсичностью и способностью накапливаться в организме. Различные его соединения обладают разной токсичностью. Однако на практике, как правило, анализируется только общее содержание свинца в различных компонентах окружающей среды, продовольственном сырье и пищевых продуктах, без дифференциации на фракции и идентификации вида соединений. В организм человека большая часть свинца поступает с продуктами питания (от 40 до 70 % в разных странах и по различным возрастным группам), а также с питьевой водой, атмосферным воздухом, при курении, при случайном попадании в пищевод кусочков содержащей свинец

краски или загрязненной свинцом почвы. С атмосферным воздухом поступает незначительное количество свинца – всего 1–2 %, но при этом большая его часть абсорбируется в организме человека [2].

В продовольственное сырье и пищевые продукты свинец может поступать из почвы, воды, воздуха, кормов сельскохозяйственных животных по ходу пищевой цепи. Кроме того, определенное значение имеет и возможность прямого загрязнения при производстве готовых предметов торговли. Наиболее высокие уровни содержания свинца отмечаются в консервах в жестяной таре, рыбе свежей и мороженой, пшеничных отрубях, желатине, моллюсках и ракообразных. Высокое содержание свинца наблюдается в корнеплодах и других растительных продуктах, выращенных на землях вблизи промышленных районов и вдоль дорог. Загрязнение продуктов в сборной жестяной банке объясняется тем, что припой, используемый при сварке швов, содержит до 60 % свинца, а используемые покрытия не выдерживают «агрессивной» среды товара [3].

Основной механизм действия свинца на организм заключается в том, что он блокирует ферменты, участвующие в синтезе гемоглобина, в результате чего красные кровяные тельца не могут переносить кислород, развивается анемия и хроническая недостаточность кислорода. В настоящий момент неясно, может ли воздействие невысоких доз свинца из окружающей среды привести к ухудшению функционирования организма.

Проблема исследования действия свинца на компоненты биологических мембран в настоящее время весьма актуальна. Вопросы о том, какие компоненты мембран наиболее чувствительны и по каким механизмам осуществляется поражение, чрезвычайно важны для понимания последствий воздействия свинца на организм. В настоящее время накоплен обширный материал об относительной чувствительности белковой и липидной фаз биологических мембран. Многочисленными исследованиями обнаружено уменьшение доли суммарных липидов и накопление холестерина, увеличение количества липоперекисей и перераспределение фракций индивидуальных фосфолипидов в мембранах клеток пораженного организма [4].

В связи с этим исследование комбинированного влияния низких температур и тяжелых металлов на состояние клеточных мембран различных популяций клеток при адаптации организма к экстремальным условиям представляет большой интерес.

Цель данной работы – исследование влияния холодового фактора и солей тяжелых металлов на структурное состояние плазматических мембран тимоцитов крыс.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись тимоциты экспериментальных животных (крыс). Все операции по выделению тимоцитов проводили на холоде по стандартной методике [5]. Охлаждение клеток проводили путем помещения их в морозильную камеру на 5–35 мин до достижения температуры раствора от –3 до +16 °С. Жизнеспособность клеток и их количество определяли в гемоцитометрической камере при помощи окрашивания раствором трипанового синего. Действие ацетата свинца моделировали следующим образом: вносили в суспензию клеток раствор ацетата свинца в конечных концентрациях 0,4 мкг/л и 0,04 мкг/л и инкубировали в течение 15 мин.

Структурное состояние плазматических мембран тимоцитов оценивали по изменению полярности и микровязкости липидного бислоя и аннулярного липида [6]. В возбужденном состоянии молекулы пирена способны объединяться в долгоживущие комплексы – эксимеры, испускание квантов у которых смещено в более длинноволновую область по сравнению с мономером. Эксимеризация является диффузионно-контролируемым процессом и может характеризовать микровязкость окружения зонда.

Измерение флуоресценции пирена при длинах волн возбуждения 286 нм и 337 нм позволяет учитывать гетерогенность липидной фазы. При возбуждении зонда светом с длиной волны 337 нм флуоресценция определяется суммарным вкладом пирена, локализованного как вблизи белка, так и в общей липидной фазе. При стимуляции флуоресценции квантами относительно низковолновой части спектра (286 нм), возникающая затем эмиссия определяется молекулами пирена, расположенными в приобластной области, так как формируется за счет безизлучательного переноса энергии на зонд с мембранных триптофанилов.

Статистическая обработка результатов проводилась с применением пакета статистических программ Microsoft Excel 2010. Результаты экспериментов выражали в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего, а достоверность различий в группах оценивали по *t*-критерию Стьюдента. При этом различия считали достоверными при $p \leq 0,05$ [7].

Результаты исследования и их обсуждение

Согласно данным литературы [1; 8], в клетках в точке замерзания или после предшествующего переохлаждения может наступить кристаллизация льда. По мере понижения температуры некоторые виды клеток постепенно обезвоживаются, так как молекулы воды выходят из клеток во внешнюю среду и там превращаются в лед. Кристаллы льда могут образоваться как в ядре, так и в цитоплазме. Может происходить также миграционная перекристаллизация, в результате которой как внутри, так и вне клеток мелкие кристаллы превращаются в крупные. Поэтому, чтобы избежать сильного повреждения клеток и клеточных мембран, в ходе эксперимента клетки подвергали постепенному охлаждению.

В ходе исследования выживаемости тимоцитов при снижении температуры суспензии клеток была отмечена тенденция к уменьшению выживаемости клеток. Однако установленные изменения в жизнеспособности клеток незначительны. Так, при контрольной температуре в 21 °C количество погибших клеток не превышало 3 %, что входит в пределы нормы, а при снижении температуры уже до 4 °C – 89 %, что говорит о гибели менее 10 % тимоцитов. Данная зависимость свидетельствует о том, что при снижении температуры более чем в 5 раз сохраняется жизнеспособность клеток. Причиной увеличения гибели может быть повреждение структуры клеток, которые связаны с фазовыми переходами в липидном и белковом компоненте, в результате чего происходит нарушение различных свойств мембраны, ведущее к гибели клетки.

Как известно, важнейшая биологическая функция липидов – построение клеточных мембран. При образовании мембраны молекулы липидов ориентируются полярными группами («головками») наружу, а неполярными углеводородными концами («хвостами») внутрь. Образованный таким образом двойной слой определяет основное свойство мембран – их избирательную проницаемость. Изменения полярности липидного бислоя и аннулярного липида ведет к возможному нарушению их связывания, образованию «пробелов» в мембранах, а также к нарушению выполняемых функций [8–9].

Таким образом, в ходе исследования были проанализированы показатели полярности плазматических мембран тимоцитов при охлаждении (рис. 1).

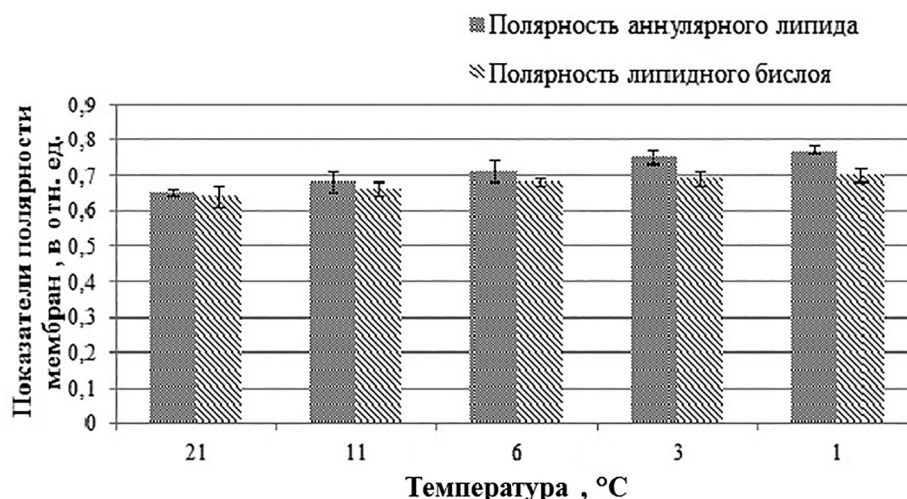


Рис. 1. Динамика изменения полярности различных областей плазматической мембраны тимоцитов при охлаждении

Fig. 1. Change in polarity of different areas of thymocytes plasma membrane upon cooling

Как следует из данных, представленных на рис. 1, при снижении температуры суспензии клеток тимуса до 11 °C не наблюдается статистически значимых изменений полярности аннулярного липида. При дальнейшем снижении температуры до 1 °C наблюдалось постепенное увеличение показателей примерно на 30 % по отношению к суспензии клеток при комнатной температуре (21 °C). Аналогичная тенденция наблюдалась при изучении показателей полярности липидного бислоя – увеличение на 20 % при снижении температуры до 1 °C. Процесс температурозависимого перехода мембраны из жидкокристаллического состояния в гелеобразное ведет к образованию стабильной структуры, пластичность которой резко отличается от мембран при физиологических температурах [10].

Температура фазового перехода зависит от длины и степени насыщенности его жирнокислотного компонента, а также от природы полярной головки. В механизмах холодовой адаптации особая роль отводится степени насыщенности: с увеличением числа двойных связей в жирнокислотных хвостах липидов температура фазового перехода понижается, что позволяет мембране нормально функционировать

в области пониженных температур. В двухкомпонентных смесях ФЛ с сильно различающимися температурами переходов они идут независимо, а в диапазоне температур между переходами жидкокристаллическое и гелеобразное состояние сосуществуют. В разделении фаз на этапе фазового перехода важна роль латеральной диффузии. В более сложных смесях кооперативность перехода менее выражена: он протекает в достаточно широкой температурной зоне, поскольку наличие холестерина обуславливает расширение температурных границ фазового перехода [10; 11].

Агрегатное состояние мембранных липидов влияет на клеточные функции, примером является изменение проницаемости для ионов и метаболитов. Поэтому характер фазовых переходов также имеет значение для прогнозирования процессов репарации мембранных структур в фазе отогрева замороженной системы. Отметим, что в области низкотемпературного перехода и особенно фазового разделения липидов уровень дефектности мембраны возрастает, что при отогреве ведет к утечке содержимого из клетки. При этом большое значение имеют латеральное разделение липидов в плоскости бислоя, которое облегчается в условиях низких температур, и время релаксации этого процесса после отогрева, когда необходимо реализовать механизм восстановления возникших трансмембранных дефектов [11].

Основой мембраны является липидный бислой, с ним связаны белки, либо погруженные в бислой, либо присоединенные к цитоплазматической поверхности, в нем также жестко закреплены интегральные белки. Микровязкость мембраны сильно влияет на ее функционирование.

Результаты экспериментов по изучению микровязкости аннулярных липидов и общего липидного бислоя представлены на рис. 2.

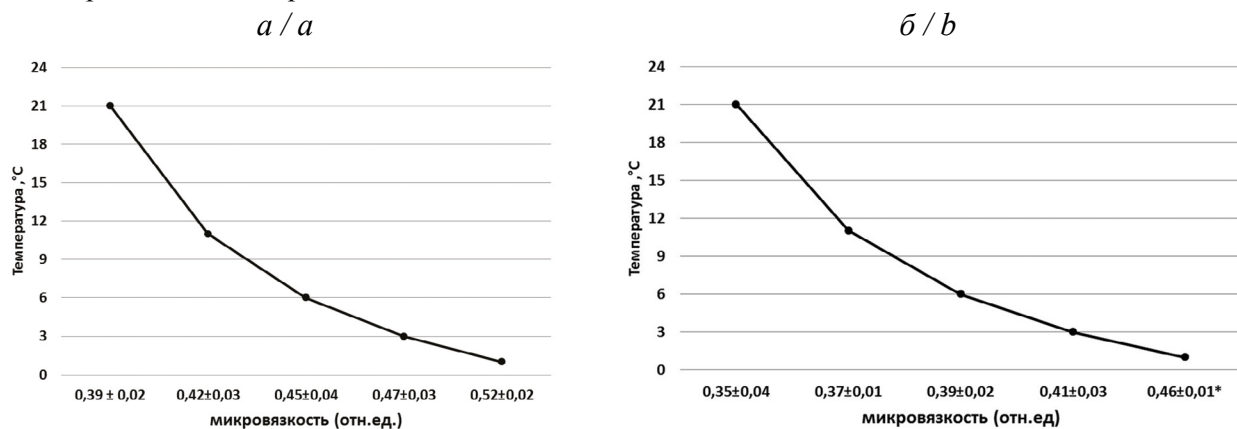


Рис. 2. Изменение микровязкости различных областей плазматической мембраны при холодовом воздействии:
а – микровязкость липидного бислоя; б – микровязкость аннулярного липида

Fig. 2. Change in microviscosity of different areas of thymocytes plasma membrane upon cooling:
a – microviscosity of lipidic bilayer; b – microviscosity of annular lipids

В ходе исследования было установлено (рис. 2, а), что охлаждение тимоцитов приводит к увеличению микровязкости общего липидного бислоя приблизительно в 1,4 раза в диапазоне температур от 21 °С до 1 °С. Микровязкость аннулярного липида также увеличивается по мере снижения температуры примерно в 1,4 раза (рис. 2, б).

При увеличении микровязкости мембраны происходит снижение ее проницаемости для воды и других малых гидрофильных молекул, также снижается и скорость латеральной диффузии интегральных белков. Если активный центр интегрального белка, осуществляющий некую функцию, располагается исключительно в гидрофильной его части, то изменение текучести липидов, вероятно, не скажется слишком сильно на активности белка. Но если белок выполняет транспортную функцию и транспортный компонент пересекает мембрану, то изменения свойств липидной фазы могут привести к значительному изменению скорости транспорта [10].

При оценке белкового компонента плазматических мембран тимоцитов отмечены некоторые изменения (табл.).

Судя по полученным результатам, снижение температуры в пределах положительных значений не приводит к серьезным изменениям структурного состояния мембраносвязанных белков на основании изучения степени тушения белковой флуоресценции пиреном.

Можно предположить, что при понижении температуры ниже нуля будет наблюдаться значительное снижение степени тушения, поскольку известно, что снижение температуры среды приводит к миграции белков из липидного матрикса к его поверхности, агрегации и сегрегации внутри липидного бислоя.

Таблица

Изменение степени тушения белковой флуоресценции плазматических мембран тимоцитов крыс при действии низких температур

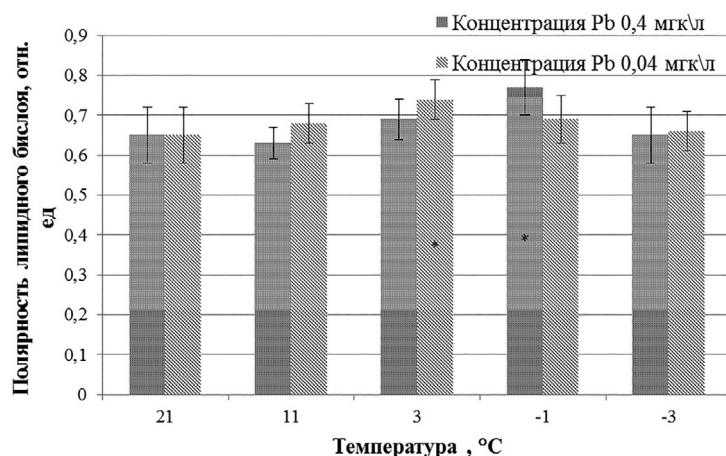
Table

Change in degree of quenching of protein fluorescence of rats' thymocytes plasma membranes at low temperature

Температура, °С	Степень тушения белковой флуоресценции, %
Контроль	
21	24,15±2,08
11	25,12±2,06
6	25,68±2,78
3	28,03±2,53
1	28,41±2,83

При исследовании комбинированного действия ацетата свинца и низких температур на изменение липидного компонента мембраны при помощи флуоресцентного зонда пирена были получены следующие результаты (рис. 3).

a / a



b / b

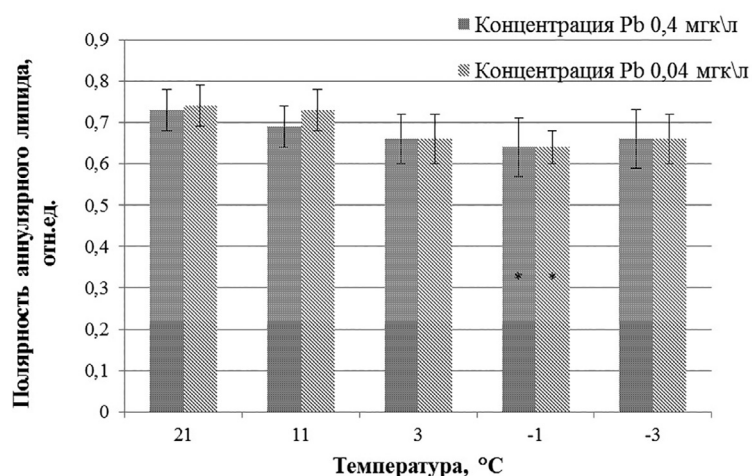


Рис. 3. Изменение полярности различных областей плазматической мембраны тимоцитов при комбинированном воздействии: *a* – полярность липидного бислоя, отн. ед.; *b* – полярность аннулярного липида, отн. ед.

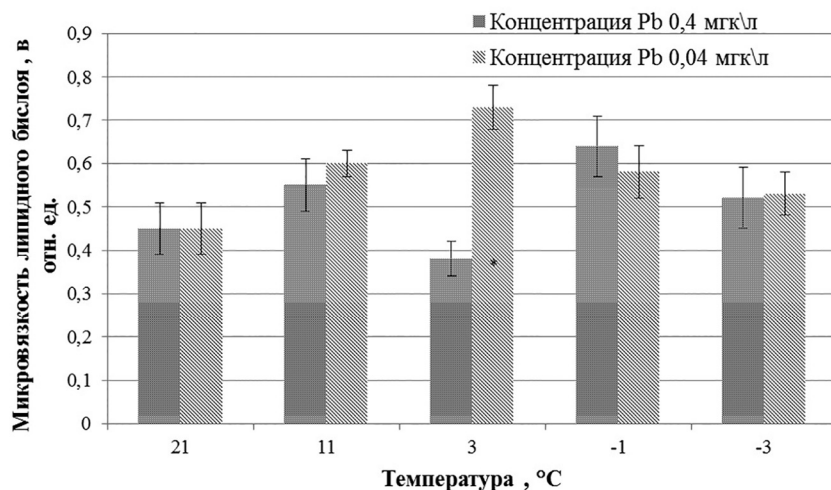
* – результаты достоверны по отношению к контролю при $p \leq 0,05$

Fig. 3. Change in polarity of different areas of thymocytes plasma membrane upon combined effect: *a* – polarity of lipidic biolayer, rel. units; *b* – polarity of annular lipids, rel. units

Как следует из рис. 3, *а*, значение полярности липидного бислоя при концентрации ацетата свинца 0,4 мкг/л и 0,04 мкг/л изменяется фазно, максимум увеличения изучаемого показателя отмечен при охлаждении клеток до +3 и –1 °С и составило 18–20 % по отношению к контролю.

В области аннулярных липидов отмечена противоположная тенденция (рис. 3, *б*). Было установлено снижение показателя полярности на 15–18 % по отношению к контролю при охлаждении. Различий, связанных с изменением концентрации ацетата свинца в среде инкубации клеток, установлено не было.

а / а



б / б

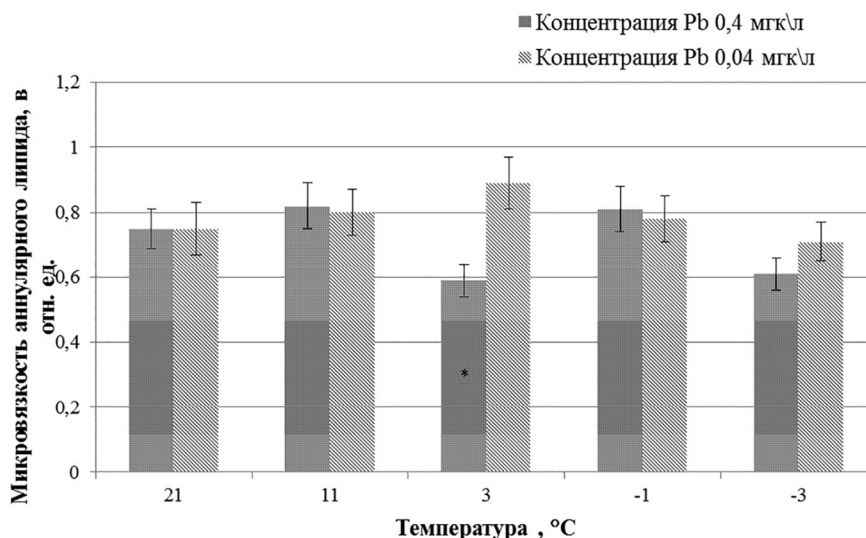


Рис. 4. Модификация микровязкости различных областей плазматической мембраны тимоцитов при комбинированном воздействии: *а* – микровязкость липидного бислоя, в отн. ед.; *б* – микровязкость аннулярного липида, в отн. ед.

* – результаты достоверны по отношению к контролю при $p \leq 0,05$

Fig. 4. Change in microviscosity of different areas of thymocytes plasma membrane upon combined effect: *а* – microviscosity of lipidic layer, rel. units; *б* – microviscosity of annular lipids, rel. units

Значения показателя микровязкости липидного бислоя плазматической мембраны представлены на рис. 4, *а*. В эксперименте наблюдается фазные изменения данного показателя при действии ацетата свинца в концентрации 0,4 мкг/л: сначала повышение его на 10 % по отношению к значениям при температуре суспензии 21 °С при охлаждении до 11 °С, а затем снижение на 20 % при достижении температуры суспензии 3 °С; после чего микровязкость области общих липидов повышается на 25–30 %. При действии ацетата свинца в концентрации 0,04 мкг/л отмечено увеличение изучаемого показателя

с максимумом при 3 °С – на 35 % по отношению к значениям при комнатной температуре.

Как следует из рис. 4, б, значение микровязкости аннулярного липида при действии ацетата свинца в концентрации 0,4мкг/л имело статистически значимое снижение на 15 % при охлаждении до температуры 3 °С. При изучении влияния соли свинца в конечной концентрации 0,04 мкг/л наблюдается тенденция к незначительному увеличению микровязкости этой области липидов (на 5 % при температуре раствора 3 °С).

Можно предположить, что комбинированное действие ацетата свинца и понижение температуры привели не только к фазовым переходам в структуре мембран от жидкокристаллического состояния к гелеобразному, но и увеличению скорости процесса перекисного окисления липидов.

Как правило, биомембраны находятся в жидкокристаллическом состоянии и, по-видимому, поддержание такого состояния очень важно для их функционирования. Жидкая часть мембраны ограничена внутренней гидрофобной фазой, которая состоит из углеводородных цепей жирных кислот. Эта фаза, однако, не всегда бывает жидкой. При охлаждении до температур ниже 10 °С мембраны замерзают, то есть жидкая фаза затвердевает, приобретая свойства двумерного кристалла [1; 11].

Изучение зависимости структурного состояния биологических мембран от температуры во многом основано на том, что многие клеточные функции, непосредственно или опосредованно связанные с мембранами, проявляют аномалии в температурных зависимостях.

Наиболее вероятной причиной этих аномалий являются структурные изменения в белковом и липидном компонентах мембранных систем.

С понижением температуры в мембране увеличивается доля структурированных липидов, область кластеров расширяется, а мембранные белки перемещаются ближе к поверхности мембраны. Образование кластеров в мембранах при снижении температуры существенно влияет на липид-белковые взаимодействия и модифицирует ферментативную активность [12].

Итак, в дальнейших экспериментах был проведен анализ влияния ацетата свинца и охлаждения в изучаемом диапазоне температур на состояние белкового компонента плазматических мембран тимоцитов крыс (рис. 5).

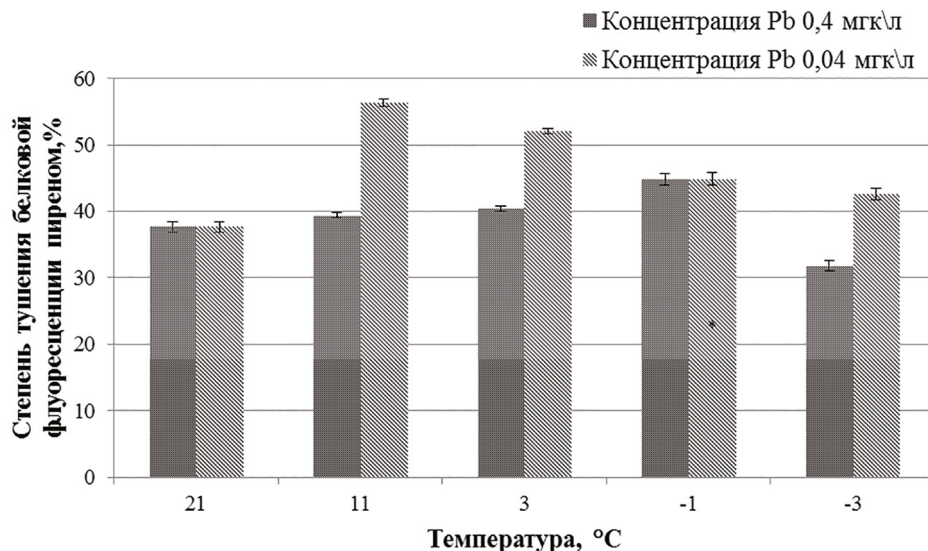


Рис. 5. Динамика изменения степени тушения белковой флуоресценции пиреном при комбинированном воздействии

* – результаты достоверны по отношению к контролю при $p \leq 0,05$

Fig. 5. Change in degree of quenching of protein fluorescence upon combined effect

Как следует из рис. 5, при изучении влияния ацетата свинца в концентрации 0,4 мкг/л на степень тушения белковой (триптофановой) флуоресценции не наблюдается достоверных различий исследуемого показателя, а при действии свинца в концентрации 0,04 мкг/л мы видим увеличение данного показателя на 40 % при охлаждении до температуры 11 °С с последующим снижением при дальнейшем понижении температуры инкубации суспензии клеток. При минимальной температуре –3 °С установлено повышение степени тушения на 15 % по отношению к значениям при комнатной температуре.

Заключение

Результаты проведенных исследований по изучению влияния свинца на структурное состояние плазматической мембраны клеток свидетельствуют, что данный элемент обладает способностью модифицировать их структурно-функциональное состояние. Этот эффект заключается в способности свинца изменять физико-химические характеристики липидного компонента цитоплазматической мембраны клеток.

Таким образом, при воздействии низких температур и тяжелых металлов на клетку наблюдается повреждение и изменение мембран, связанное с возможными фазовыми переходами при охлаждении клеток *in vitro*. Так как мембраны тимоцитов представляют собой белково-липидный слой, то криовоздействие направлено на модификацию их взаимодействия. При воздействии на липидный компонент изменялось естественное агрегатное состояние, что может оказывать большое влияние на функцию и структуру белков, липидов, и их взаимодействие. Согласно результатам, полученным из проведенного опыта, можно говорить, что основным фактором, повреждающим мембраны и приводящим к гибели клеток, является изменение структуры липидов, так как липиды участвуют в различных функциях клеток и мембран (структурная, защитная, транспортная, энергетическая, и др.)

Библиографические ссылки

1. Жмакин А. И. Физические основы криобиологии // Успехи физических наук. 2008. Т. 178, № 3. С. 243–266.
2. Новикова М. А., Пушкарев Б. Г., Судаков Н. П. и др. Влияние хронической свинцовой интоксикации на организм человека (сообщение 1) // Сиб. мед. журнал. 2013. № 2. С. 13–16.
3. Явербаум П. М. Общие вопросы токсического действия свинца. Иркутск, 2006.
4. Абдуллаев В. Р., Мурадова Г. Р., Абдуллаева Н. М. Люминесцентный анализ состояния митохондрий при воздействии некоторых тяжелых металлов // Изв. Самарск. науч. центра РАН. 2015. Т. 17, № 5. С. 243–246.
5. Лимфоциты: Методы : пер. с англ. / под ред. Дж. Клауса. М., 1990. 400 с.
6. Векишин Н. Л. К вопросу об измерении вязкости модельных и биологических мембран по люминесценции пирена // Биол. науки. 1987. № 11. С. 59–66.
7. Атраментова Л. А., Утевская О. М. Статистические методы в биологии : учебник. Горловка, 2008.
8. Голохваст К. С., Чайка В. В. Некоторые аспекты механизма влияния низких температур на человека и животных (литературный обзор) // Вестн. новых мед. технол. 2011. Т. 18. № 2. С. 486–489.
9. Козырева Т. В., Елисеева Л. С., Вавилин В. А. и др. Влияние скорости и глубины охлаждения на иммунный ответ и содержание кортикостерона в плазме крови / Т. В. Козырева, Л. С. Елисеева, В. А. Вавилин // Росс. физиол. журнал. 2000. Т. 86. № 12. С. 1618–1623.
10. Луценко М. Т., Луценко М. М., Шматок М. И. Повреждающее действие низких температур на миофибриллы кардиомиоцитов // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2013. Вып. 48. С. 56–62.
11. Позднякова О. Н., Просина Л. А., Кондратенко Е. И. и др. Ранние изменения уровня продуктов перекисного окисления липидов в крови крыс // Вестн. АГТУ. 2006. № 3(32). С. 207–213.
12. Луценко М. М. Особенности липидного обмена при общем охлаждении организма // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып. 44. С. 95–100.

References

1. Zhmakin A. I. Physical fundamentals of cryobiology. *Success of phys. sci.* 2008. Vol. 178, No. 3. P. 243–266 (in Russ.).
2. Novikova M. A., Pushkarev B. G., Nikiforov S. B., et al. The effect of persistent lead intoxication on human organism. *Sib. Med. J.* 2013. No. 2. P. 13–16.
3. Yaverbaum, P. M. General issues of toxicity of lead. Irkutsk, 2006 (in Russ.).
4. Abdullayev V. R., Muradova G. R., Abdullayeva N. M. Luminescent analysis state of the mitochondria when exposed to certain heavy metals. *News of the Samara Scien. Cent. RAS.* 2015. Vol. 17, No. 5. P. 243–246.
5. Klaus J. (ed). Lymphocytes: Methods. Moscow, 1990 (in Russ.).
6. Vekshin N. L. The issue of measuring the viscosity model and biological membranes on luminescence of pyrene. *Biol. scien.* 1987. No. 11. P. 59–66 (In Russ.).
7. Atramentova L. A., Utevskaia O. M. Statistical methods in biology: textbook. Gorlovka, 2008 (in Russ.).
8. Golokhvast K. S., Chaika V. V. Several aspects of the mechanism of low temperature effect upon human being and animals (literary review). *Herald of new med. technol.* 2011. Vol. 18, No. 2. P. 486–489 (in Russ.).
9. Kozyreva T. V., Eliseeva L. S., Vavilin V. A. Effect of cooling speed and depth on the immune response and the content of corticosterone in blood plasma. *Russ. physiol. J.* 2000. Vol. 86, No. 12. P. 1618–1623 (in Russ.).
10. Lutsenko M. T., Lutsenko M. M., Shmatok M. M. Deleterious effect of low temperatures on myofibril cardiomyocytes. *News of physiol. and pathol. of breath.* 2013, issue 48. P. 56–62.
11. Pozdnyakova O. N., Prosina L. A., Kondratenko E. I., et al. Early changes in the levels of lipid peroxidation in blood of rats. *Vestn. ASTU.* 2006. No. 3(32). P. 207–213 (in Russ.).
12. Lutsenko M. M. Features of lipid metabolism at the general cooling of the organism. *News of physiol. and pathol. of breath.* 2012, issue. 44. P. 95–100 (in Russ.).

Статья поступила в редколлегию 26.05.2017
Received by editorial board 26.05.2017