

**ВЛИЯНИЕ МЕЛАТОНИНА
НА ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЕ РАВНОВЕСИЕ
В УСЛОВИЯХ ХОЛОДОВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ
С ПОСЛЕДУЮЩИМ ОТОГРЕВАНИЕМ КРЫС**

© В. В. Зинчук, С. В. Глуткин

Кафедра нормальной физиологии Гродненского медицинского университета, Беларусь,
230015, Гродно, ул. Горького, 80, e-mail: zinchuk@grsmu.by

Целью данной работы было изучение влияния мелатонина на прооксидантно-антиоксидантное равновесие крыс при холодовом воздействии с последующим отогреванием. Холодовое воздействие выполнялось в течение 120 мин при температуре воды 19 °С в боксе, отогревание животных осуществлялось на протяжении последующих 120 мин со средней скоростью отогревания 0.6 °С за 10 мин. За 30 мин до холодового воздействия внутривентриально вводился мелатонин в объеме 1 мл (использовались различные дозы мелатонина 0.1; 1; 10 однократно и 1 мг/кг ежедневно в течение 4 суток). Определялись такие показатели, как продукты перекисного окисления липидов (диеновые конъюгаты, основания Шиффа) и факторы антиоксидантной защиты (α -токоферол, каталаза). Введение мелатонина снижает активность процессов перекисного окисления липидов в тканях, повышает антиоксидантную защиту организма. Целенаправленное воздействие на прооксидантно-антиоксидантное равновесие по усилению антиоксидантной защиты может влиять на тяжесть нарушений, возникающих при развитии постгипотермического состояния.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, антиоксидант, мелатонин, отогревание, температура.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 94. № 12. С. 1435—1442. 2008

V. V. Zinchuk, S. V. Hlutkin. THE MELATONIN INFLUENCE ON THE PROXIDANT/ANTIOXIDANT BALANCE IN RATS DURING A COLD EXPOSURE WITH SUBSEQUENT REWARMING. Normal physiology Department, Grodno State Medical University, Gorky Str. 80, 230015, Grodno, Belarus, e-mail: zinchuk@grsmu.by

We aimed to study the melatonin influence on the prooxidant-antioxidant balance in rats during a cold exposure with subsequent rewarming. The cold exposure lasted 120 min. in the box with a water temperature of 19 °C; rewarming was performed for the next 120 min. with a mean rate of 0.6 °C during 10 min. Melatonin was administered intraperitoneally 30 min before the cold exposure in the dose of 1 ml as a bolus (0.1, 1, or 10 mg/kg) or periodically (1 mg/kg/day, 4 days). We measured the lipid peroxidation products (conjugated dienes and Schiff bases) and antioxidant defense factors (α -tocopherol, catalase). Melatonin lowered the tissue lipid peroxidation activity and enhanced the better antioxidant defense may affect the severity of disorders developing during the post-hypothermic state.

Key words: lipid peroxidation, antioxidant, melatonin, rewarming, body temperature.

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 94. N 12. P. 1435—1442. 2008

Действие холодового фактора широко встречается в различных сферах деятельности человека. Восстановление физиологических функций у охлажденного организма после различного рода несчастных случаев, катастроф, искусственной

гипотермии является актуальной задачей теоретической и прикладной медицины. При развитии гипотермии в организме происходят сложные изменения различных физиологических функций, в том числе и обеспечивающих кислородное снабжение тканей, и как следствие — возникновение гипоксии [8, 9, 14, 16]. Восстановление температуры тела после охлаждения не приводит к полному устранению нарушений, вызванных охлаждением, особенно при глубокой гипотермии [7].

В условиях неэффективного использования кислорода в организме при гипотермии его доля в оксигеназных реакциях резко возрастает, и возникает сдвиг прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма в сторону активации процессов перекисного окисления липидов [5, 22]. Холодовое воздействие вызывает окислительные изменения тканей, изменяя ферментативный и неферментативный антиоксидантный статус, окисление белков и перекисное окисление липидов [17, 20]. В то же время известно, что при кратковременном свободном плавании в холодной воде (13 °С) происходит стимуляция антиоксидантной системы в крови мышцей, что приводит к увеличению общей устойчивости животных к другим экстремальным воздействиям и повышению способности организма к адаптации [2].

Среди различных факторов антиоксидантной защиты в последнее время уделяется внимание мелатонину. За счет его уникальных физико-химических свойств и метаболитов их действие по надежности и стабильности не уступает многим известным антиоксидантам. Выявлено влияние мелатонина на уровень продуктов перекисного окисления липидов и протеолитическую активность базальных ядер головного мозга в условиях острой гипоксии [13]. Показано, что мелатонинообразующая функция эпифиза претерпевает фазные изменения в динамике адаптации к холоду: значительное усиление в течение первых 15 мин, сменяющееся постепенным торможением вплоть до резкого угнетения (через 3 ч) [3].

Целью данной работы было изучение влияния мелатонина на прооксидантно-антиоксидантное равновесие при холодовом воздействии с последующим отогреванием крыс.

МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на 48 крысах-самцах массой 220—270 г, содержащихся на стандартном рационе вивария. Животные наркотизировались тиопенталом натрия (50 мг/кг, внутривенно). Для проведения исследований нами использовался метод искусственной гипотермии с последующим отогреванием. Животные в период охлаждения и отогревания располагались в специальных боксах без непосредственного контакта с водой. Холодовое воздействие выполнялось в течение 120 мин при температуре воды в боксе 19 °С, отогревание крыс осуществлялось на протяжении последующих 120 мин со средней скоростью отогревания 0,6 °С за 10 мин. За 30 мин до холодового воздействия вводился внутривенно мелатонин в объеме 1 мл (в 1%-ном растворе этанола). В зависимости от способа введения мелатонина животные были разделены на 6 экспериментальных групп: 1-я — контроль; 2-я — подвергалась охлаждению с последующим отогреванием; в следующих группах животные подвергались охлаждению и отогреванию, но предварительно получали мелатонин в дозе 0,1 (3-я), 1 (4-я), 10 (5-я) однократно и по 1 мг/кг ежедневно в течение 4 суток (6-я). Измерение ректальной температуры осуществлялось с помощью электротермометра ТПЭМ-1 через каждые 10 мин. Забор смешанной венозной крови из правого предсердия осуществлялся в конце периода отогревания. Выполненные манипуляции на животных осуществлялись в соответствии с рекомендациями, подготовленными Европейской комиссией по защите используемых в экспериментах животных и с разрешения этической комиссии.

В гомогенатах тканей экспериментальных животных исследовали концентрацию показателей перекисного окисления липидов: в верхней гептановой фазе измерялась оптическая плотность диеновых конъюгатов при длине волны 233 нм на спектрофотометре «СФ-46» (ЛОМО) [11], в хлороформной фазе определяли интенсивность флуоресценции

оснований Шиффа (длины волн возбуждения и испускания 340 и 440 нм соответственно) на спектрофлуориметре «F-4010» (Hitachi) [19]. Также измеряли факторы антиоксидантной защиты: в верхнем гексановом слое исследовали флуоресценцию α -токоферола с использованием стандарта фирмы «Sigma» на спектрофлуориметре «F-4010» (Hitachi) [15], активность каталазы определялась спектрофотометрически, измеряя оптическую плотность окраски верхнего слоя смеси при длине 410 нм, и рассчитывалась на 1 мг белка по формуле [10]. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы STATISTICA (версия 6). Средние выборочные значения количественных признаков приведены в виде $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$, где \bar{x} — среднее значение, $S_{\bar{x}}$ — ошибка среднего значения. Данные анализировали методами непараметрической статистики (критерий Манна—Уитни).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изменения ректальной температуры крыс в проведенных исследованиях представлены на рис. 1. При введении мелатонина в больших дозах (однократно 1 и 10 мг/кг, 1 мг/кг в течение 4 дней) наблюдалось наименьшее снижение температуры тела. Наибольшая величина ректальной температуры в конце периода отогревания наблюдалась у животных, однократно получавших мелатонин в дозе 1 и 10 мг/кг и 1 мг/кг в течение 4 дней, в сравнении с группой гипотермия/отогревание. У крыс, получавших мелатонин в дозе 0.1 мг/кг, значение данного параметра не отличалось от температуры животных, подвергавшихся действию холода и отогревания.

Содержание диеновых конъюгат в гомогенатах исследуемых тканей отображено в табл. 1. В результате холодового воздействия и последующего отогревания количество диеновых конъюгат увеличивалось в печени, в почках, в легких, в миокарде по отношению к контролю. Введение мелатонина в дозе 0.1 мг/кг снижало содержание диеновых конъюгат в почках, в легких. Относительно группы охлаждения с последующим отогреванием введение 1 мг/кг мелатонина уменьшало уровень диеновых конъюгат во всех исследуемых тканях, что также наблюдалось при введении мелатонина в течение четырех дней. При введении 10 мг/кг мелатонина наблюдалось наиболее выраженное снижение количества диеновых

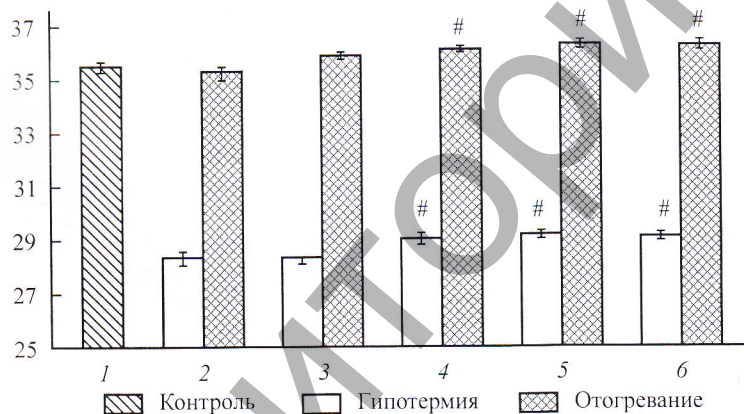


Рис. 1. Изменение ректальной температуры крыс в конце холодового воздействия и последующего отогревания.

По оси ординат — температура, °C; по оси абсцисс — опытные группы: 1 — контроль; 2 — гипотермия/отогревание; 3 — мелатонин (0.1 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 4 — мелатонин (1 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 5 — мелатонин (10 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 6 — мелатонин (четырежды 1 мг/кг) + гипотермия/отогревание. # $p < 0.05$ по отношению к группе гипотермия/отогревание.

Таблица 1

Содержание диеновых конъюгатов в гомогенатах тканей крыс при гипотермии и последующем их отогревании в условиях введения различных доз мелатонина ($\bar{x} \pm S_x$)

Параметры	Контроль (n = 9)	Гипотермия/отогревание (n = 8)	Мелатонин (0.1 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 7)	Мелатонин (1 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 8)	Мелатонин (10 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 8)	Мелатонин (четырекратно 1 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 8)
ДК, $\Delta A_{233}/г$	8.97 ± 0.86	11.50 ± 0.37	10.46 ± 0.62	7.13 ± 0.29 [#]	6.55 ± 0.59 [#]	8.46 ± 0.67 [#]
	7.80 ± 0.76	10.50 ± 0.68	8.34 ± 0.61 [#]	7.20 ± 0.56 [#]	5.43 ± 0.50 [#]	7.08 ± 0.73 [#]
	7.29 ± 0.69	10.40 ± 0.49	8.09 ± 0.55 [#]	5.68 ± 0.49 [#]	4.60 ± 0.67 [#]	7.25 ± 0.70 [#]
	7.67 ± 0.69	10.53 ± 0.69	10.80 ± 0.51	7.63 ± 0.57 [#]	5.23 ± 0.57 [#]	7.68 ± 0.62 [#]

Примечание. [#] p < 0.05 по отношению к группе гипотермия/отогревание.

Таблица 2

Содержание оснований Шиффа в гомогенатах тканей крыс при гипотермии и последующем их отогревании в условиях введения различных доз мелатонина ($\bar{x} \pm S_x$)

Параметры	Контроль (n = 9)	Гипотермия/отогревание (n = 8)	Мелатонин (0.1 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 7)	Мелатонин (1 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 8)	Мелатонин (10 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 8)	Мелатонин (четырекратно 1 мг/кг) + гипотермия/отогревание (n = 8)
ОШ, Ед/г	195.18 ± 3.23	264.74 ± 2.99	247.44 ± 4.48 [#]	232.31 ± 2.54 [#]	208.49 ± 2.94 [#]	216.91 ± 3.37 [#]
	121.61 ± 3.76	140.35 ± 2.46	135.54 ± 2.10	126.52 ± 3.23 [#]	108.93 ± 4.22 [#]	118.96 ± 2.19 [#]
	210.79 ± 1.23	249.21 ± 2.98	234.56 ± 2.02 [#]	205.00 ± 3.98 [#]	187.49 ± 2.77 [#]	206.42 ± 2.25 [#]
	217.57 ± 2.13	250.45 ± 2.95	229.71 ± 3.86 [#]	226.63 ± 3.05 [#]	193.19 ± 4.71 [#]	213.65 ± 2.88 [#]

Примечание. [#] p < 0.05 по отношению к группе гипотермия/отогревание.

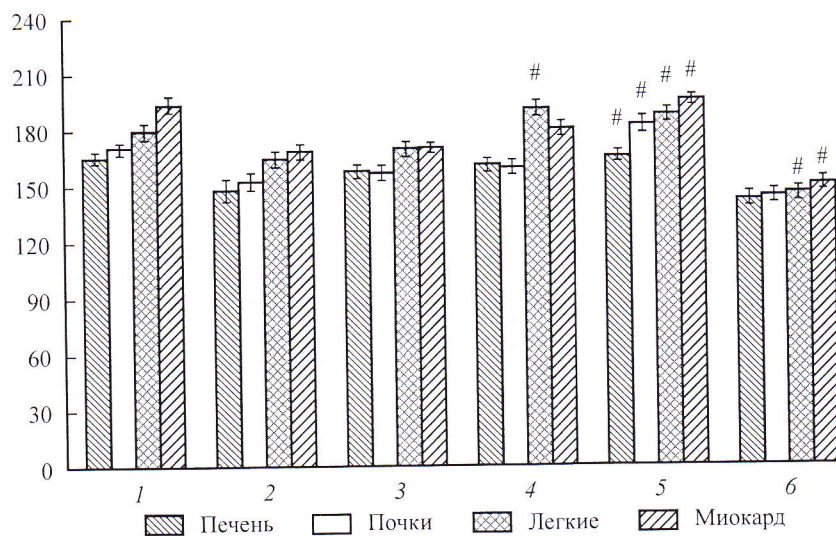


Рис. 2. Содержание α -токоферола в гомогенатах тканей крыс при гипотермии и последующем их отогревании в условиях введения различных доз мелатонина.

По оси ординат — содержание α -токоферола, мкМ/г; по оси абсцисс — опытные группы: 1 — контроль; 2 — гипотермия/отогревание; 3 — мелатонин (0.1 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 4 — мелатонин (1 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 5 — мелатонин (10 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 6 — мелатонин (четырёхкратно 1 мг/кг) + гипотермия/отогревание. [#] $p < 0.05$ по отношению к группе гипотермия/отогревание.

конъюгат во всех исследуемых тканях по отношению к группе охлаждения с последующим отогреванием (%): в печени на 43 ($p < 0.001$), в почках на 48.3 ($p < 0.001$), в легких на 55.8 ($p < 0.01$), в миокарде на 50.3 ($p < 0.001$).

Уровень оснований Шиффа представлен в табл. 2. Относительно контроля в группе охлаждения и отогревание содержание оснований Шиффа было выше в печени, почках, легких и миокарде. Введение мелатонина в дозе 0.1 мг/кг снижает концентрацию оснований Шиффа в печени на 6.5 % ($p < 0.05$), в легких на 5.9 % ($p < 0.01$), в миокарде на 8.3 % ($p < 0.01$) по отношению к группе охлаждение с последующим отогреванием. Относительно группы охлаждения и отогревание введение мелатонина в больших дозах тоже уменьшало концентрацию оснований Шиффа в исследуемых тканях. Наиболее выраженное снижение количества оснований Шиффа во всех исследуемых тканях по отношению к группе охлаждения с последующим отогреванием наблюдалось при введении 10 мг/кг мелатонина (%): в печени на 21.3 ($p < 0.001$), в почках на 22.4 ($p < 0.01$), в легких на 24.8 ($p < 0.001$), в миокарде на 22.9 ($p < 0.001$).

Содержание α -токоферола в гомогенатах тканей представлено на рис. 2. При холодом воздействии и последующем отогревании уровень α -токоферола снижался во всех исследуемых тканях в сравнении с контрольной группой. Инъекция мелатонина (1 мг/кг) увеличивала содержание α -токоферола по сравнению с группой охлаждения и отогревания только в легких. Однократная инъекция мелатонина в дозе 10 мг/кг приводила к наиболее выраженному повышению уровня α -токоферола во всех тканях по отношению к животным, подвергавшимся холодному воздействию и последующему отогреванию (%): в печени на 12.3 ($p < 0.05$), в почках на 19.5 ($p < 0.01$), в легких на 13.9 ($p < 0.001$), в миокарде на 16.1 ($p < 0.001$).

Изменение активности каталазы в исследуемых тканях крыс отображены на рис. 3. В результате холодного воздействия и последующего отогревания актив-

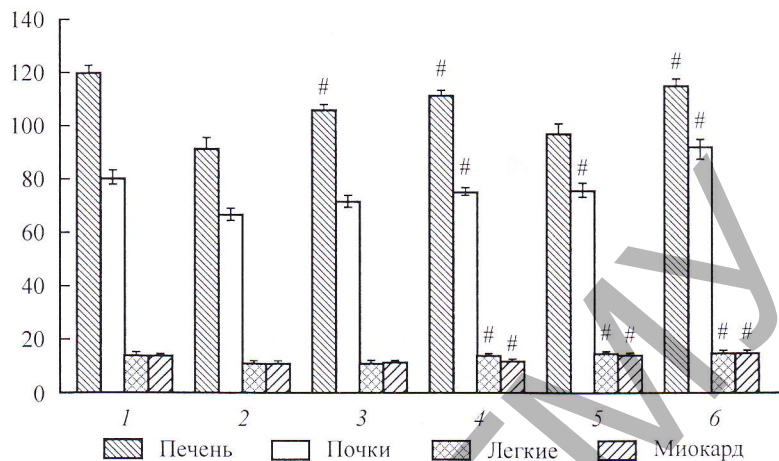


Рис. 3. Содержание каталазы в гомогенатах тканей крыс при гипотермии и последующем их отогревании в условиях введения различных доз мелатонина.

По оси ординат — активность каталазы, мМ/мин на 1 г ткани; по оси абсцисс — опытные группы: 1 — контроль; 2 — гипотермия/отогревание; 3 — мелатонин (0.1 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 4 — мелатонин (1 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 5 — мелатонин (10 мг/кг) + гипотермия/отогревание; 6 — мелатонин (четырекратно 1 мг/кг) + гипотермия/отогревание. # $p < 0.05$ по отношению к группе гипотермия/отогревание.

ность данного фермента снижалась в тканях (печень, почки, легкие, миокард) относительно контрольной группы. По отношению к группе охлаждения и отогревание однократная инъекция мелатонина (1 мг/кг) приводила к увеличению активности каталазы во всех исследуемых тканях, в то время как введение мелатонина в дозе 0.1 мг/кг увеличивало активность фермента только в печени. Введение 10 мг/кг мелатонина повышало ее значение в почках на 35.5 % ($p < 0.01$), в легких на 38.4 % ($p < 0.001$), в миокарде на 36.9 % ($p < 0.01$) относительно группы охлаждения и отогревания. Инъекция мелатонина в течение четырех дней повышала каталазную активность по отношению к животным, подвергавшимся холодному воздействию и последующему отогреванию (%): в печени на 26.5 ($p < 0.01$), в почках на 36.9 ($p < 0.01$), в легких на 42 ($p < 0.001$), в миокарде на 43.6 ($p < 0.001$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Как видно из полученных данных, группы с введением мелатонина характеризуются более высокой ректальной температурой крыс в период холодного воздействия и последующего отогревания. Со стороны показателей прооксидантно-антиоксидантного равновесия наблюдается усиление активности процессов перекисного окисления липидов, снижение антиоксидантной защиты у крыс, подвергавшихся холодному воздействию и последующему отогреванию. Введение мелатонина снижает рост активности процессов перекисного окисления липидов в тканях, повышает антиоксидантную защиту организма.

Мелатонин обладает широким спектром физиологических функций. Среднеобразия функций мелатонин оказывает иммуномодулирующее действие, проявляет антиоксидантные свойства. Механизм его антиоксидантного действия обусловлен прежде всего способностью связывать образующиеся при перекисном окислении липидов наиболее токсичные гидроксильные радикалы, а также пероксинитрит, оксид азота, синглетный кислород и пероксильный радикал [18].

Не только непосредственно мелатонин, но и его метаболиты (N¹-ацетил-N²-формил-5-метоксикинурамин, циклический 3-гидроксимелатонин и другие) обладают антиоксидантным действием [21]. Известно регуляторное влияние этого гормона на процесс образования и функцию основных элементов крови, обеспечивающее адаптивный характер их изменений при неблагоприятных воздействиях [1].

По-видимому, данная субстанция может действовать как фактор, корригирующий процессы свободнорадикального окисления и в целом окислительного стресса, вызванного токсическим поражением печени [12]. Анализируя наблюдаемые изменения со стороны прооксидантно-антиоксидантного равновесия при их коррекции мелатонином, можно предположить, что в механизмах его протекторного действия могут участвовать и кислородсвязывающие свойства крови, как это и отмечалось при ряде окислительных повреждений [6, 4]. Так, в опытах *in vitro* добавление мелатонина в культуру эритроцитов человека и животных предупреждает гемолиз, вызываемый различными цитотоксическими воздействиями (паракват, малоновый диальдегид, перекись водорода, соли тяжелых металлов и другие), сроки наступления полного гемолиза почти удваиваются, осмотическая стойкость эритроцитов возрастает одновременно с повышением в них уровня ионов калия, задерживаются модификация мембранных белков, денатурация гемоглобина и высвобождение гемина [1].

Таким образом, результаты выполненных нами исследований свидетельствуют, что мелатонин обладает антиоксидантными свойствами, снижает активность процессов перекисного окисления липидов, улучшает восстановление организма при его отогревании после холодового воздействия. Целенаправленное воздействие на прооксидантно-антиоксидантное равновесие по усилению антиоксидантной защиты может влиять на тяжесть нарушений, возникающих при развитии постгипотермического состояния, что может быть использовано для разработки путей направленной коррекции метаболических нарушений при холодовом воздействии и последующем отогревании.

Данная работа выполнена частично благодаря финансовой поддержке Фонда фундаментальных исследований РБ (№ Б07-023).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] Арушанян Э. Б., Бейер Э. В. Мелатонин и система крови. Эксперим. и клинич. фармакология. 69 (3) : 74—79. 2006.
- [2] Ахалая М. Я., Платнов А. Г., Байжуманов А. А. Кратковременное охлаждение повышает антиоксидантный статус и общую устойчивость животных. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 141 (1) : 31—34. 2006.
- [3] Бондаренко Л. А., Губина-Вакулик Г. И. Морфофункциональные изменения пинеальной железы в динамике адаптации к гипотермии. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 87 (12) : 1643—1649. 2001.
- [4] Глебов А. Н., Зинчук В. В. Кислородтранспортная функция крови крыс при введении липополисахарида в условиях коррекции L-аргинин-NO системы. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 91 (9) : 1052—1060. 2005.
- [5] Дорохина Л. В., Зинчук В. В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO системы. Вестн. НАН РБ. Сер. биол. нав. 4 : 87—90. 2000.
- [6] Зинчук В. В., Борисюк М. В. Роль кислородсвязывающих свойств крови в поддержании прооксидантно-антиоксидантного равновесия организма. Успехи физиол. наук. 30 (3) : 38—48. 1999.
- [7] Иванов К. П. Проблема восстановления физиологических функций у человека при глубокой эксидентальной гипотермии (к вопросу о пределах физиологической адаптации). Физиол. человека. 28 (3) : 123—130. 2002.

- [8] *Иванов К. П.* Физиологическая блокада механизмов холодовой смерти. Возобновление физиологических функций при глубокой смертельно опасной гипотермии. Успехи физиол. наук. 38 (2) : 63—74. 2007
- [9] *Козырева Т. В., Ткаченко Е. Я., Симонова Т. Г.* Функциональные изменения при адаптации организма к холоду. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 34 (2) : 76—84. 2003.
- [10] *Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е.* Метод определения активности каталазы. Лаб. дело. 1 : 16—19. 1988.
- [11] *Костюк В. А., Потапович А. И., Лунец Е. Ф.* Спектрофотометрическое определение диеновых конъюгатов. Вопр. мед. химии. 4 : 125—127. 1984.
- [12] *Попов С. С., Пашков А. Н., Попова Т. Н., Семенихина А. В., Рахманова Т. И.* Мелатонин как фактор коррекции процессов свободнорадикального окисления при токсическом поражении печени крыс. Эксперим. и клинич. фармакология. 70 (1) : 48—51. 2007.
- [13] *Сопова И. Ю., Загорский И. И.* Влияние мелатонина на взаимосвязь между уровнем ПОЛ и протеолитической активностью в базальных ядрах. Бул. эксперим. биологии и медицины. 142 (7) : 94—96. 2006.
- [14] *Федоров Г. С., Арокина И. К., Иванов К. П.* Механизмы угнетения физиологических функций при гипотермии и способ их стимуляции без отогревания тела. Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 92 (11) : 1373—1381. 2006.
- [15] *Черняускене Р. Ч., Варшкявичене З. З., Грибаускас П. С.* Одновременное флуориметрическое определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови. Лаб. дело. 6 : 362—365. 1984.
- [16] *Чуйкин А. Е., Федорова Т. Е.* Восстановление газообмена и транспорта кислорода у крыс после пролонгированной гипотермии. Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 84 (3) : 198—207. 1998.
- [17] *Шустанова Т. А., Бондаренко Т. И., Милютин Н. П.* Свободнорадикальный механизм развития холодового стресса у крыс. Рос. физиол. журнал им. И. М. Сеченова. 90 (1) : 73—82. 2004.
- [18] *Allegra M., Reiter R. J., Tan D. X., Gentile C., Tesoriere L., Livrea M. A.* The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. J. Pineal Res. 34 : 1—10. 2003
- [19] *Fletcher B. L., Dillard C. J., Tappel A. L.* Fluorescent products of lipid peroxidation of mitochondria and microsomes. Analyt. Biochem. 52 (1) : 1—9. 1973.
- [20] *Sahin E., Gümüslü S.* Cold-stress-induced modulation of antioxidant defence: role of stressed conditions in tissue injury followed by protein oxidation and lipid peroxidation. Int. J. Biometeorol. 48 : 165—171. 2004.
- [21] *Tan D. X., Manchester L. C., Terron M. P., Flores L. J., Z, Reiter R. J.* One molecule, many derivatives: A never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? J. Pineal Res. 42 : 28—42. 2007.
- [22] *Zinchuk V. V., Dorokhina L. V., Maltsev A. N.* Prooxidant-antioxidant balance in rats under hypothermia combined with modified hemoglobin-oxygen affinity. J. Thermal Biology. 27 : 345—352. 2002.

Поступила 27 XII 2007
После доработки 17 IX 2008