

**ВОЗДЕЙСТВИЕ ХИМИЧЕСКИХ ТОКСИКАНТОВ НА РЕГУЛЯЦИЮ
ОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ**

Шишкина Л.Н., Козлов М.В., Повх А.Ю., Швыдкий В.О.

ФГБУН Институт биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН, 119334, г. Москва, ул. Косыгина, 4, лаборатория физико-химических проблем радиобиологии и экологии, 8-495-939-71-86, shishkina@sky.chph.ras.ru

Резюме. Экспериментально установлено, что ионы меди, характеризующиеся высокой токсичностью, ускоряют спонтанное низкотемпературное окисление лецитина (смесь природных липидов) в соответствии с долей фосфолипидов в составе его общих липидов. Внутривентрикулярное введение 0,3%-ного раствора твина-80 (используемый в медицине солюбилизатор) в 10%-ном водном ацетоне (малотоксичный растворитель) и наличие в питьевой воде черного щелока (промышленный токсикант) в широком диапазоне концентраций вызывают существенные нарушения регуляции окислительных процессов в печени мышей. Предположено, что сохранение измененного клеточного метаболизма в течение длительного времени обуславливает токсичность изученных воздействий.

Ключевые слова. Липиды, перекисное окисление, регуляция, ионы меди, твин-80, ацетон, черный щелок

**ACTION OF THE CHEMICAL TOXICANTS ON REGULATION OF THE OXIDATIVE
PROCESSES**

Shishkina L.N., Kozlov M.V., Povkh A.Yu., Shvydkiy V.O.

Emanuel Institute of Biochemical Physics of Russian Academy of Sciences, 119334, Moscow, Kosygin st., 4, 8-495-939-71-86, shishkina@sky.chph.ras.ru

Abstract. Cuprum ions characterizing a high toxicity is experimentally established to accelerate the spontaneous low-temperature oxidation of lecithin (a mixture of the natural lipids) according to the phospholipid share in their total lipid composition. Both the intraperitoneal administration of Tween 80 which is used as a solubilizer in medicine in the 10% aqueous solution of acetone (a low toxicity solvent) and the presence in drinking water of the black liquor (industrial toxicant) at the wide range of concentrations result to the essentially disruptions of the oxidation processes regulation in the liver of mice. It is supposed that existence of the changed cell metabolism for a long time is due to the toxicity of studied actions.

Key words. Lipids, peroxidation, regulation, cuprum ions, Tween 80, acetone, black liquor.

Введение

Перекисное окисление липидов (ПОЛ), являясь одним из наиболее ранних в эволюционном плане регуляторных механизмов [1], протекает во всех типах мембран, клетках, органах и тканях биологических объектов. Стационарность ПОЛ в норме поддерживается физико-химической системой регуляции, однотипность функционирования которой экспериментально установлена как на мембранном, так и клеточном и органном уровнях [2]. Активные формы кислорода (АФК), среди которых свободные гидроксильные или кислородсодержащие радикалы, неорганические и органические пероксиды, являются не только инициаторами ПОЛ, но и параметрами системы его регуляции. Рост концентрации АФК рассматривается в качестве основной причины развития окислительного стресса в организме, играющего важную роль медиатора поражения липидов, белков и ДНК [3, 4]. В органах и тканях интактных животных существуют тесные корреляционные взаимосвязи между различными параметрами физико-химической системы регуляции ПОЛ: концентрация пероксидных радикалов и пероксидов, антиокислительная и антипероксидная активности липидов, количество продуктов их окисления, состав фосфолипидов, способность липидов к окислению. Изменение масштаба и направленности взаимосвязей между тесно скоординированными в норме показателями при воздействии на организм повреждающих факторов разной природы позволили предложить новый подход к оценке участия окислительных процессов в регуляции метаболизма в зависимости от природы и тяжести повреждающего воздействия [5].

Цель данной работы – сравнительный анализ корреляционных взаимосвязей между параметрами системы регуляции окислительных процессов в зависимости от исходного состояния процессов ПОЛ в печени млекопитающих при воздействии химических токсикантов и их участие в инициации процессов ПОЛ.

Результаты.

Ионы Cu^{2+} , обладая выраженными токсичными свойствами [6], являются и инициаторами ПОЛ [7]. Основным субстратом окисления в биологических объектах выступают фосфолипиды (ФЛ) мембран. Оценка участия ионов меди в инициации ПОЛ была проведена на модели спонтанного окисления соевого лецитина в дистиллированной воде при 20°C. Выбор лецитина в качестве модельного субстрата окисления обусловлен

тем, что он является смесью природных липидов, не менее 50% которых представлены ФЛ. Однако, как и все природные объекты, разные партии лецитина характеризуется существенными различиями состава ФЛ [8] в силу высокой лабильности их липидов. Поэтому состав липидов определяли для каждой партии лецитина. Было выявлено, что при наличии в реакционной системе ионов меди и лецитина в эквимольных концентрациях ($[\text{Cu}^{2+}] = [\text{лецитин}] = 3,8 \times 10^{-5}$ моль/л) интенсивность окисления лецитина уже в первые минуты реакции возрастает с увеличением доли ФЛ в составе его общих липидов по сравнению с их уровнем в лецитине. Это следует из данных, представленных на рис. 1. Анализ представленных результатов свидетельствует о том, что процесс инициирования ПОЛ ионами Cu^{2+} является автоускоренным, что характерно для процессов автоокисления, протекающих с участием реакций вырожденного разветвления.

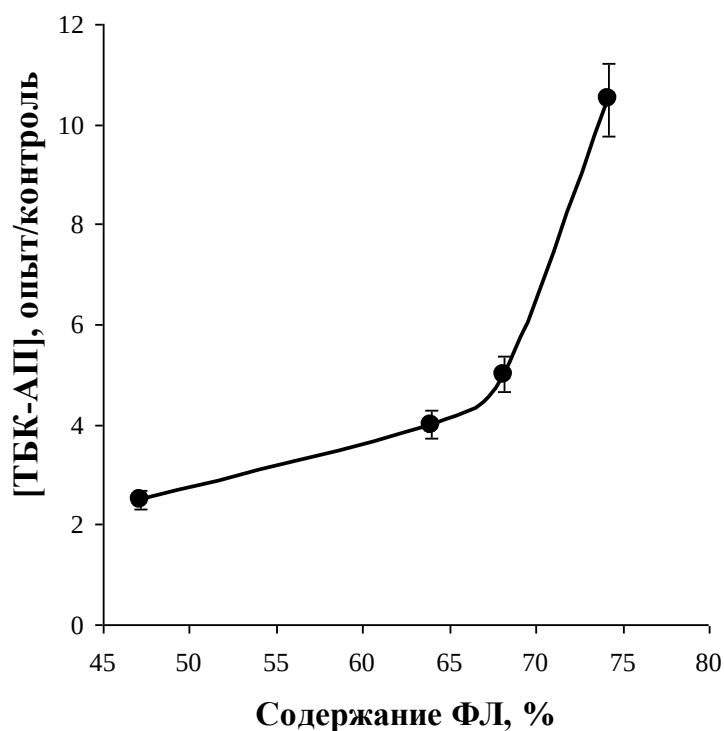


Рис. 1. Влияние ионов двухвалентной меди на относительное увеличение количества ТБК-активных продуктов при спонтанном окислении лецитина в дистиллированной воде в зависимости от доли фосфолипидов в составе его общих липидов.

Высокая чувствительность параметров системы регуляции к действию химических токсикантов разной степени токсичности была показана и в экспериментах на животных. Выбор печени в качестве основного объекта исследования обусловлен тем, что печень является одним из основных органов как биосинтеза и деградации ФЛ, так и

биотрансформации ксенобиотиков, поступивших в организм. Твин-80, обладающий поверхностно-активными свойствами, используется в медицине как солюбилизатор для введения в организм гидрофобных соединений. Ацетон относится к малотоксичным органическим растворителям. Черный щелок представляет собой отходы целлюлозно-бумажного производства и присутствует в водной среде не только в районе расположения комбинатов. Используемые в работе мыши SHK и линии Balb/c характеризуются разной чувствительностью к действию неблагоприятных экологических факторов, что обусловлено различиями состояния ПОЛ в их тканях. Так, в гомогенате печени мышей линии Balb/c в группе возрастного контроля, липиды которых содержали пероксиды, количество продуктов окисления, реагирующих с 2-тиобарбитуровой кислотой (ТБК-АП), было равно $0,115 \pm 0,010$ нмоль/мг белка, в то время как аналогичный показатель для гомогената печени мышей SHK равен $0,080 \pm 0,008$. Поскольку по содержанию ТБК-АП в сложных биологических системах оценивают интенсивность ПОЛ, то величины данного показателя позволяют сделать заключение о более интенсивном протекании процессов ПОЛ в печени мышей линии Balb/c, чем в печени мышей SHK.

Как известно, Твин-80 обладает биологической активностью [9, 10], поэтому для исследования доза ПАВ была в 36 раз ниже предела рекомендуемой дозы Твин-80 при использовании его в качестве компонента растворов при нейропсихофармакологических исследованиях [11]. Доза ацетона была в 100 раз ниже его ПДК [12]. Концентрация черного щелока в питьевой воде мышей составляли 0,005% (групп I); 0,015% (группа II) и 0,05% (группа III). Спустя месяц после введения Твина-80 и ацетона в гомогенате печени мышей [ТБК-АП] = $0,0985 \pm 0,0125$ нмоль/мг белка. При наличии в питьевой воде мышей черного щелока спустя 32 суток после начала эксперимента значения аналогичного показателя составляли $0,078 \pm 0,014$ нмоль/мг белка (группа I); $0,109 \pm 0,015$ нмоль/мг белка (группа II) и $0,076 \pm 0,010$ нмоль/мг белка (группа III). Следовательно, средние значения содержания продуктов ПОЛ в гомогенатах печени мышей достоверно не отличались от аналогичных значений в их контрольных группах. Однако, детальный анализ состояния ПОЛ в печени мышей во всех экспериментальных группах существенно отличается от контроля, несмотря на то, что дозы всех изученных токсикантов незначительно отличались от фоновых значений. Так, способность липидов к окислению в печени мышей после введения Твин-80 и ацетона ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = 0,842 \pm 0,043$) достоверно ($p < 0,05$) ниже, чем в группе контрольных животных ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = 0,975 \pm 0,034$).

Среди корреляционных взаимосвязей, играющих существенную роль в регуляции биохимических процессов в печени мышей, важна взаимосвязь между способностью липидов к окислению (соотношение сумм более легкоокисляемых и более

трудноокисляемых фракций фосфолипидов, $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$) и структурным состоянием мембранной системы органа, которое характеризуется отношением основных фракций ФЛ мембран клеток животных, т.е. фосфатидилхолин/фосфатидилэтаноламин (ФХ/ФЭ) [12]. Выявлено, что данная взаимосвязь в липидах печени мышей после совместного действия Твин-80 и ацетона достоверно отличается от контроля (рис. 2). Как видно из данных рис. 2, обратная корреляционная взаимосвязь между способностью липидов к окислению и структурным состоянием мембранной системы печени после воздействия малотоксичных химических агентов сохраняется, однако коэффициент линейной регрессии этой взаимосвязи в опытной группе мышей в 2,7 раза выше, чем в группе возрастного контроля. Кроме того, если в группе интактных мышей лизоформы фосфолипидов образуются преимущественно из ФХ, то при воздействии малотоксичных химических токсикантов в малых дозах аналогичная взаимосвязь отсутствует, но обнаружена обратная корреляция между долей лизоформ и относительным содержанием ФЭ в составе фосфолипидов печени опытных мышей ($R = -0,915 \pm 0,008$).

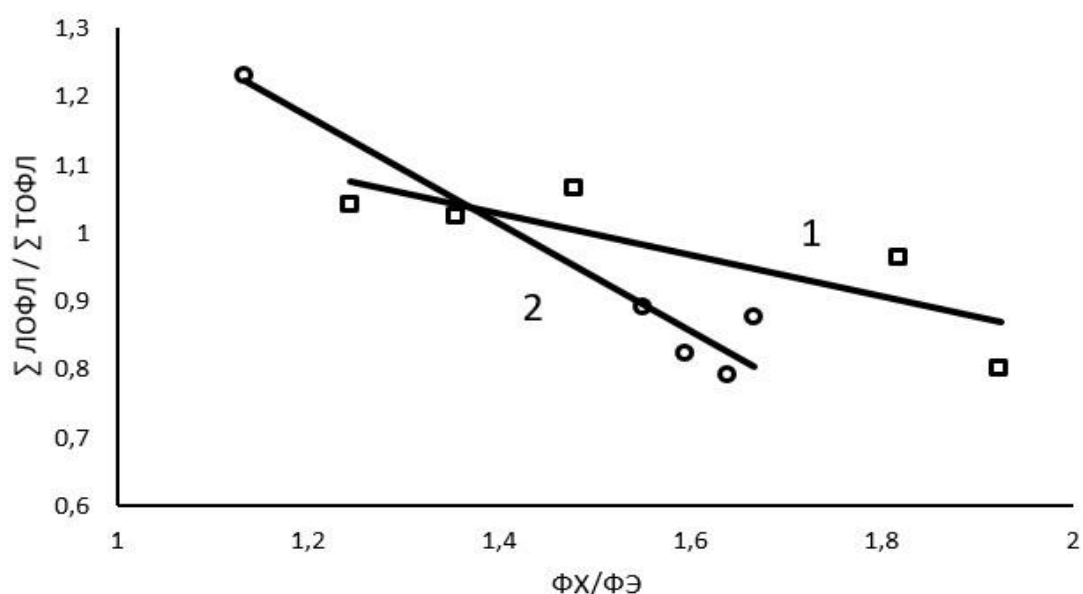


Рис. 2. Взаимосвязь между соотношением сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых фракций фосфолипидов в печени мышей линии Balb/c (самцы) в группах возрастного контроля (1) и спустя месяц после однократного введения 0,3%-ного раствора Твин-80 в 10%-ном водном растворе ацетона (2).

Существенные изменения масштаба и характера взаимосвязи между способностью липидов к окислению и структурным состоянием мембранной системы печени выявлены и при добавлении черного щелока в питьевую воду мышей, обусловленные, как и при

воздействии малотоксичных химических соединений, изменением количественного соотношения фракций в составе ФЛ в зависимости от концентрации добавленного токсиканта. Так, при наличии обратной корреляционной взаимосвязи между $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ и отношением $\text{ФХ}/\text{ФЭ}$ в липидах печени контрольной группы мышей ($R=-0,92\pm0,06$) аналогичная закономерность выявлена только в группе мышей, получавших черный щелок в концентрации 0,015% ($R=-0,95\pm0,04$). При наиболее высокой из исследованных концентраций взаимосвязанность между данными параметрами снижается ($R=-0,70\pm0,21$), при наличии токсиканта в концентрации 0,005% отсутствует.

Отношение $\text{ФХ}/\text{ФЭ}$ в ФЛ печени мышей SHK ($1,764\pm0,044$) достоверно ($p<0,05$) выше, чем аналогичный показатель в ФЛ печени мышей линии Balb/c ($1,518\pm0,038$), в то время как способность липидов к окислению на 30% меньше, что обуславливает более высокий коэффициент линейной регрессии данной обратной корреляционной взаимосвязи в фосфолипидах печени мышей SHK по сравнению с аналогичной величиной для мышей линии Balb/c. При этом выявлено значительное уменьшение коэффициента линейной регрессии обратной взаимосвязи между параметрами $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$ и $\text{ФХ}/\text{ФЭ}$ в опытных группах мышей при воздействии черного щелока, в то время как при совместном действии твин-80 и ацетона данный показатель существенно превышал его величину в контроле.

Таким образом, влияние токсикантов на стадию инициирования процессов ПОЛ определяется количеством субстрата окисления - фосфолипидов. Как введение малотоксичных химических веществ в малых дозах, так и наличие черного щелока в питьевой воде животных в широком диапазоне доз вызывают существенные изменения в системе регуляции окислительных процессов в печени мышей, сохраняющиеся в течение длительного времени после воздействия. Все изученные воздействия вызвали существенные изменения количественного соотношения фракций в составе фосфолипидов, в то время как среднегрупповые доли фосфолипидов в составе общих липидов печени во всех опытных группах достоверно не отличались от соответствующих контрольных значений. Необходимо отметить, что изученные воздействия проявляются и на физиологическом уровне, приводя к нарушению взаимосвязи между массой печени и массой мыши, которая обнаружена в обеих группах возрастного контроля. Совокупность представленных данных позволяет предположить, что нарушения регуляции окислительных процессов в печени млекопитающих при воздействии токсикантов разной природы являются основой их токсичности.

Материалы.

Объектами исследования являлись липиды, выделенные из печени половозрелых мышей линии Balb/c (самцы, масса 16-20 г) и мышей SHK (самки,)масса 19,5 - 24,5 г.). В качестве токсикантов использовали следующие соединения. 0,3% раствор твина-80 (Ferak Berlin, Германия) в 10%-ном водном ацетоне марки ос.ч, который готовили непосредственно перед экспериментом и вводили мышам линии Balb/c внутривентрально по 0,2 мл на каждые 20 г массы мыши. Забой животных (5 особей) осуществляли спустя 1 месяц после начала эксперимента одновременно с контрольной группой (5 особей). Мышам SHK ежедневно вместо питьевой (водопроводной) воды давали свежеприготовленный раствор черного щелока (отходы целлюлозно-бумажного производства) в концентрациях 0,005% (групп I); 0,015% (группа II) и 0,05% (группа III). Мыши группы IV из той же партии получали водопроводную воду и служили контролем. Число мышей в каждой группе 10 особей. Забой опытных и контрольных мышей декапитацией проводили одновременно спустя 32 суток после начала эксперимента. Во всех экспериментах с животными их забой проводили с 9 до 10 час утра, чтобы исключить суточные колебания параметров, а печень сразу помещали в бюксы, охлаждаемые льдом.

10%-ный раствор соевого лецитина в этаноле (Харьков, Украина) использовали как модельный субстрат окисления в экспериментах *in vitro*. Источником ионов двухвалентной меди (Cu^{2+}) служил раствор обезвоженного сульфата меди (марка ХЧ) в дистиллированной воде.

Методы.

Липиды из печени выделяли по методу Блая и Дайера в модификации Кейтса [13]. Концентрацию пероксидов в липидах определяли методом йодометрического титрования (ГОСТ 26583-85). Качественный и количественный состав ФЛ печени мышей и лецитина определяли методом ТСХ, используя силикагель типа G “Sigma” (США), стеклянные пластинки размером 9×12 см. Смесь растворителей хлороформ – метанол - ледяная уксусная кислота - дистиллированная вода в соотношениях 12,5 : 7,5 : 2 : 1. использовали в качестве подвижной фазы Проявление хроматограмм осуществляли в парах йода. Количественный анализ фракций ФЛ проводили спектрофотометрически по образованию фосфорномолибденового комплекса в присутствии аскорбиновой кислоты либо на спектрофотометре Du-50 фирмы “Beckman” (США) при длине волны 810 нм, либо на фотометре КФК-3 при длине волны 800 нм. Методические подробности анализа состава липидов представлены в работе [10]. Оценивали обобщенные показатели состава липидов: содержание ФЛ (% ФЛ) в составе общих липидов; отношение количеств основных фракций ФЛ клеток млекопитающих фосфатидилхолин к фосфатидилэтаноламину

MEDLINE.RU, ТОМ 21, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ, 21 МАЯ 2020 (ФХ/ФЭ) отражающее структурное состояние мембранной системы органа; соотношение сумм более легкоокисляемых и более трудноокисляемых фракций ФЛ ($\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ}$), характеризующее способность липидов к окислению [14]. Последнее соотношение вычисляли по формуле: $\Sigma\text{ЛОФЛ}/\Sigma\text{ТОФЛ} = (\text{ФИ} + \text{ФС} + \text{ФЭ} + \text{КЛ} + \text{ФК})/(\text{ЛФХ} + \text{СМ} + \text{ФХ})$, где ФИ – фосфатидилинозит, ФС – фосфатидилсерин, КЛ – кардиолипин, ФК – фосфатидная кислота, ЛФХ – лизоформы фосфолипидов, СМ – сфингомиелин.

Количество ТБК-активных продуктов (ТБК-АП) в гомогенатах печени и в экспериментах с лецитином определяли по методу [15]. Содержание белка анализировали микробиуретовым методом [16]. Все параметры определяли для каждого животного индивидуально. Общее число мышей в экспериментах 50 особей.

Результаты обрабатывали общепринятыми методами вариационной статистики и с помощью компьютерного пакета программ KINS [17]. Достоверность различий оценивали, используя t-критерий Стьюдента.

Работа выполнена в рамках государственного задания Института биохимической физики им. Н.М. Эмануэля РАН (№ 44.4, гос. № темы: 0084-2019-0014).

Литература

1. *Меньщикова Е.Б., Зеньков Н.К.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Успехи современной биологии. 1993. Т. 13. № 4. С. 442-455.
2. *Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V.* Functioning Similarity of the Physicochemical Regulatory System of the Lipid Peroxidation on the Membrane and Organ Levels / Pharmaceutical and Medical Biotechnology: New Perspectives. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2013. Chapter 14. P. 151-157.
3. *Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Tesler J.* Free Radicals and antioxidants in normal and physiological functions and human disease / IJBCB. 2007. Vol. 39. P. 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001
4. *Keshari A.K., Verma A.K., Kumar T., Srivastava R.* Oxidative Stress. A review / The International Journal of Science & Technology. 2015. Vol. 3. N. 7. P. 155-162.
5. *Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V.* A New Approach to Analysis of Participation of Oxidative Processes in Regulation of Metabolism in Animal Tissues / Biophysics. 2014. Vol. 59. N. 2. P. 310-315.
6. *Jones C.M., Burkitt M.J.* EPR spin-trapping evidence for the direct, one-electron reduction of tert-butylhydroperoxide to the tert-butoxyl radical by copper(II): paradigm a previously overlooked reaction in the initiation of lipid peroxidation / J. Am. Chem. Soc. 2003. Vol. 125. N. 23. P. 6946-6954.

7. *Lyalina E.I., Fokina A.I., Ashikhmina T.Ya., Olkova A.S., Beresneva E.V., Darovskikh L.V., Yarmolenko A.S.* Comprehensive chemical-toxicological research of copper(II) sulfate solutions containing reduced glutation / Теоретическая и прикладная экология. 2018. № 2. С. 101-107 [In English].

8. *Маракулина К.М., Крамор Р.В., Луканина Ю.К., Плащина И.Г., Поляков А.В., Федорова И.В., Чукичева И.Ю., Кучин А.В., Шишкина Л.Н.* Влияние природы фосфолипидов на масштаб их взаимодействия с антиоксидантами нового класса – изоборнилфенолами / ЖФХ. 2016. Т. 90. № 2. С. 182-189.

9. *Dib B., Falchi M.* Convulsions and death induced in rats by Tween 80 are prevented by capsaicin / Int. J. Tissue React. 1996/ Vol. 18. N 1. P. 27-31.

10. *Shishkina L.N., Kushnireva Ye.V., Smotryaeva M.A.* The combined effect of surfactant and acute irradiation at low dose on lipid peroxidation process in tissues and DNA content in blood plasma of mice / Oxidation Communication. 2001. Vol. 24. N 2. P. 276-286.

11. *Varma R.K., Kaushal R., Junnarkar A.Y. et al.* Polysorbate 80: A pharmacological study / Arzneimittelforschung 1985. Bd. 35. N 3. S. 804-808.

12. *Козлов М.В., Кушнирева Е.В., Урнышева В.В., Таран Ю.П., Шишкина Л.Н.* Влияние характеристик липидов на регуляцию биохимических процессов в печени и крови животных / Биофизика. 2007. Т. 52. Вып. 4. С. 693-698.

13. *Kates M.* The Technique of lipidology. M.: Mir, 1975. 322 p. (Russian version).

14. *Шишкина Л.Н., Кушнирева Е.В., Смотряева М.А.* Новые подходы к оценке биологических последствий воздействия радиации в малых дозах // Радиационная биология. Радиоэкология. 2004. Т. 44. № 3. С. 289-295.

15. *Asakawa T., Matsushita S.* Coloring Conditions of Thiobarbituric Acid Test for Detecting Lipid Hydroperoxides / Lipids. 1980. Vol.15. N 3. P. 137-140.

16. *Itzhaki R., Gill D.M.* A micro-biuretic method for estimating proteins / Anal. Biochemistry. 1964. Vol. 9. P. 401-410.

17. *Брин Э.Ф., Травин С.О.* Моделирование механизмов химических реакций / Хим. физика. 1991. Т. 10. № 6. С.830–837.

Reference

1. *Men'shchikova Ye.B., Zenkov N.K.* Antioxidants and Inhibitors of the radical oxidative processes / Uspekhi sovremennoy biologii = Advances of modern biology. 1993. Vol. 13. N 4. P. 332-455 [In Russian].

2. *Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V.* Functioning Similarity of the Physicochemical Regulatory System of the Lipid Peroxidation on the Membrane and Organ

MEDLINE.RU, ТОМ 21, ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТОКСИКОЛОГИЯ, 21 МАЯ 2020
Levels / Pharmaceutical and Medical Biotechnology: New Perspectives. N.Y.: Nova Science Publishers, Inc., 2013. Chapter 14. P. 151-157.

3. *Valko M., Leibfritz D., Moncol J., Cronin M.T.D., Mazur M., Tesler J.* Free Radicals and antioxidants in normal and physiological functions and human disease / *IJBCB*. 2007. Vol. 39. P. 44-84. doi: 10.1016/j.biocel.2006.07.001

4. *Keshari A.K., Verma A.K., Kumar T., Srivastava R.* Oxidative Stress. A review / *The International Journal of Science & Technology*. 2015. Vol. 3. N. 7. P. 155-162.

5. *Shishkina L.N., Klimovich M.A., Kozlov M.V* A New Approach to Analysis of Participation of Oxidative Processes in Regulation of Metabolism in Animal Tissues / *Biophysics*. 2014. Vol. 59. N. 2. P. 310-315.

6. *Jones C.M., Burkitt M.J.* EPR spin-trapping evidence for the direct, one-electron reduction of tert-butylhydroperoxide to the tert-butoxyl radical by copper(II): paradigm a previously overlooked reaction in the initiation of lipid peroxidation / *J. Am. Chem. Soc.* 2003. Vol. 125. N. 23. P. 6946-6954.

7. *Lyalina E.I., Fokina A.I., Ashikhmina T.Ya., Olkova A.S., Beresneva E.V., Darovskikh L.V., Yarmolenko A.S.* Comprehensive chemical-toxicological research of copper(II) sulfate solutions containing reduced glutation / *Теоретическая и прикладная экология*. 2018. № 2. С. 101-107 [In English].

8. *Marakulina K.M., Kramor R.V., Lukanina Yu.K., Plashchina I.G., Polyakov A.V., Fedorova I.V., Chukicheva I.Yu., Kutchin A.V., Shishkina L.N.* Effect of the phospholipid nature on scale of their interaction with antioxidants of a new class – isobornylphenols / *Journal of the Physical Chemistry*. 2016. Vol. 90. N 2. P. 182- 189 [In Russian].

9. *Dib B., Falchi M.* Convulsions and death induced in rats by Tween 80 are prevented by capsaicin / *Int. J. Tissue React.* 1996/ Vol. 18. N 1. P. 27-31.

10. *Shishkina L.N., Kushnireva Ye.V., Smotryaeva M.A.* The combined effect of surfactant and acute irradiation at low dose on lipid peroxidation process in tissues and DNA content in blood plasma of mice / *Oxidation Communication*. 2001. Vol. 24. N 2. P. 276-286.

11. *Varma R.K., Kaushal R., Junnarkar A.Y. et al.* Polysorbate 80: A pharmacological study / *Arzneimittelforschung* 1985. Bd. 35. N 3. S. 804-808.

12. *Kozlov M.V., Kushnireva Ye.V., Urnysheva V.V., Taran Yu.P., Shoshkina L.N.* Effect of characteristics of lipids on regulation of the biochemical processes in liver and blood of mice / *Биофизика = Biophysics*. 2007. Vol. 52. N 4. P. 693-698 [In Russian].

13. *Kates M.* The Technique of lipidology. M.: Mir, 1975. 322 p. (Russian version).

14. *Shishkina L.N., Kushnireva Ye.V., Smotryaeva M.A.* A new approach to assessment of biological consequences of exposure to low-dose radiation // *Radiat. Biologiya. Radioekologiya* = Radiation biology. Radioecology. 2004. V. 44. № 3. P. 289-295 [In Russian].
15. *Asakawa T., Matsushita S.* Coloring Conditions of Thiobarbituric Acid Test for Detecting Lipid Hydroperoxides / *Lipids*. 1980. Vol.15. N 3. P. 137-140.
16. *Itzhaki R., Gill D.M.* A micro-biuretic method for estimating proteins / *Anal. Biochemistry*. 1964. Vol. 9. P. 401-410.
17. *Brin E.F., Travin S.O.* Modeling the mechanisms of chemical reactions // *Chemical Physics*. 1991. V. 10. N 6. P. 830-837 [In Russian]