

Вплив ритмічної краніоцеребральної гіпотермії на нейрогуморальні механізми регуляції циклічних процесів репродуктивної системи

UDC 616.89-008.19:618.179:615.832.9

O.V. ERSHOVA

Effect of Rhythmic Craniocerebral Hypothermia on Neurohumoral Mechanisms of Cyclic Process Regulation in Reproductive System

У результаті досліджень встановлено, що застосування ритмічної краніоцеребральної гіпотермії (РКЦГ) при порушеннях циклічних процесів репродуктивної системи у самок-щурів дозволяє спрямовано коректувати патологічні процеси, які розвиваються при емоційно-больовому стресі (ЕБС). У процесі РКЦГ відбувається зміна секреції серотоніну в епіфізі й гіпоталамусі експериментальних тварин, що свідчить про перспективність методу РКЦГ для корекції порушень, обумовлених функціональною дисфункцією нейротрансмітерної системи. Також при застосуванні РКЦГ із метою корекції порушень циклічних процесів репродуктивної системи самок-щурів після ЕБС спостерігається спрямована тенденція до нормалізації гормонального рівня в периферичній крові експериментальних тварин.

Ключові слова: ритмічна краніоцеребральна гіпотермія, емоційно-больовий стрес, порушення циклічності репродуктивних функцій, статеві гормони.

В результате исследований установлено, что применение ритмической краниоцеребральной гипотермии (РКЦГ) при нарушениях циклических процессов репродуктивной системы у самок-крыс позволяет направленно корректировать патологические процессы, которые развиваются при эмоционально-болевым стрессе (ЭБС). В процессе РКЦГ происходит изменение секреции серотонина в эпифизе и гипоталамусе экспериментальных животных, что свидетельствует о перспективности применения метода РКЦГ для коррекции нарушений, обусловленных функциональной дисфункцией нейротрансмиттерной системы. Также при применении РКЦГ с целью коррекции нарушений циклических процессов репродуктивной системы самок-крыс после ЭБС отмечается направленная тенденция к нормализации гормонального уровня в периферической крови экспериментальных животных.

Ключевые слова: ритмическая краниоцеребральная гипотермия, эмоционально-болевым стресс, нарушения цикличности репродуктивных функций, половые гормоны.

The application of rhythmic craniocerebral hypothermia (RCCH) under disordered cyclic processes of reproductive system in female rats was established as enabling to directly correct pathological processes, developing under emotional-pain stress (EPS). During RCCH the changes of serotonin secretion in epiphysis and hypothalamus occur, thereby indicating to the expediency of RCCH method application to correct disorders caused by functional dysfunction of neurotransmitter system. When using RCCH with the aim to correct the disorders of cyclic processes in female rat reproductive systems after EPS a directed tendency of hormonal level normalisation in peripheral blood is also determined.

Key-words: rhythmic craniocerebral hypothermia, emotional-pain stress, cyclic disorders in reproductive functions, sexual hormones.

За даними різних авторів частка жіночої безплідності у шлюбі складає в різних регіонах України 45-85% [3, 4, 6, 10]. Ендокринний синдром визначається в третині випадків від загальної кількості хворих на безплідність з порушенням менструальної функції. При цьому змінюються нейрохімічні процеси і формується стійке замкнуте патологічне коло "психосоматичного розладу" з розвитком нейроендокринного синдрому, до якого, у першу чергу, відносять гіпоталамічний синдром. Внаслідок емоційних стресових перевантажень відбуваються зміни в системі епіфіз-гіпоталамус-гіпофіз, які виявляються у підвищенні рівня пролактину, зниженні секреції прогестерону та естрадіолу, порушенні співвідношення гонадотропнів, зміні рівня

As reported in the papers [3, 4, 6, 10] the share of female infertility in marriage is 45-85% in different regions of Ukraine. Endocrine syndrome is found in one third of the total number of infertile female patients with disordered menstrual function, herewith the neurochemical processes are changed and resistant closed pathological circle of "psychosomatic disorder" with neuroendocrine syndrome development forms, to which the hypothalamus syndrome is primarily referred. Due to emotional stress overloads there are occurred the changes in epiphysis-hypothalamus-hypophysis system, manifesting in an enhanced prolactin level, decreased progesterone and estradiol secretion, disordered ratio of gonadotropins, change in follicle-stimulating hormone level. When treating hypothalamic

Інститут проблем криобіології і кріомедицини
НАН України, м. Харків

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

* Адреса для кореспонденції: вул. Переяславська, 23, м. Харків, Україна 61015; тел.:+38 (057) 373-34-75, факс: +38 (057) 373-30-84, електронна пошта: cryo@online.kharkov.ua

* Address for correspondence: 23, Pereyaslavskaya str., Kharkov, Ukraine 61015; tel.:+380 57 373 3475, fax: +380 57 373 3084, e-mail:cryo@online.kharkov.ua

фолікулостимулюючого гормону. При терапії гіпоталамічного нейроендокринного синдрому (як однієї з причин безплідності) поряд із загальноприйнятими методами застосовують нетрадиційні підходи, які дозволяють здійснювати контрольований спрямований вплив на структури центральної нервової системи. Це забезпечує повноцінність функціональних реакцій системи епіфіз-гіпоталамус-гіпофіз. На нашу думку, таким методом може бути ритмічна краніоцеребральна гіпотермія (РКЦГ).

Мета дослідження – експериментальне визначення впливу РКЦГ на нейрогуморальні механізми регуляції циклічних процесів репродуктивної системи у самок-щурів, які перенесли дію емоційно-больового стресу (ЕБС).

Матеріали і методи

Експерименти проводили на статевозрілих самках-щурах лінії Вістар масою 180-200 г. При цьому дотримувались національних “Загальних етичних принципів експериментів на тваринах”, які узгоджуються з положенням “Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментальних і інших наукових цілей” (Страсбург, 1985). У експериментах використовували морфологічний метод, радіоізотопний метод проникності гематоенцефалічного бар’єра (ГЕБ) та секреції медіаторів у структурах мозку. Рівень гормонів (лютеїнізуючого гормону (ЛГ), фолікулостимулюючого гормону (ФСГ), естрадіолу (Е)) визначали у периферичній крові імуноферментним методом.

Репродуктивну функцію тварин оцінювали по естральному циклу, за результатами цитології вагінальних мазків аналізували загальну тривалість циклу і його фазову структуру. Для оцінки фертильності самок-щурів їх спаровували з інтактними самцями. У вагінальних мазках самок реєстрували сперматозоїди. Індeksi плідності й вагітності обчислювали за формулами:

$$\text{Індекс плідності} = \frac{\text{кількість запліднених самок}}{\text{загальна кількість самок}} \times 100\%;$$

$$\text{Індекс вагітності} = \frac{\text{кількість вагітних самок}}{\text{загальна кількість самок}} \times 100\%.$$

Препарування зразків тканин епіфіза, гіпоталамуса для світлової мікроскопії полутонких зрізів проводились відповідно до прийнятих методів та рекомендацій [12]. Модель ЕБС, підсиленого періодичною іммобілізацією, досягали нанесенням тваринам больових роздратувань електричним струмом [5]. Гіпотермічний вплив здійснювали на оригінальній установці, через яку подавалось охо-

neuroendocrine syndrome (as one of infertility causes) among with the standard methods one applies non-traditional approaches, enabling to realise a controlled targeted effect on the central nerve system structures. This provides the integrity of functional responses of epiphysis-hypothalamus-hypophysis system. We believe a rhythmic craniocerebral hypothermia (RCCH) may be such a method.

The research was targeted to experimentally determine the RCCH effect on neurohumoral regulation mechanisms of cyclic process in reproductive system in female rats after endured emotional-pain stress (EPS).

Materials and methods

Experiments were performed in 180-200 g Wistar mature male rats. We met the national “General Principles of Experiments in Animals”, agreed with the statements of the “European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and Other Scientific Purposes” (Strasbourg, 1985). In the experiments we used the morphological and radioisotopic methods for blood brain barrier (BBB) permeability and mediator secretion in brain structures. The level of hormones – luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH), estradiol (E) were found in peripheral blood with immune enzyme method.

Reproductive function of animals was evaluated on estrous cycle, on the results of cytology of vaginal smears there was analyzed the total cycle duration and its phase structure.

To estimate the fertility of female rats they were coupled with intact males. The spermatozoa were found in vaginal smears of females. The indices of fertility and pregnancy were calculated on the formulae:

$$\text{Fertility index} = \frac{\text{number of fertilized females}}{\text{total number of the females}} \times 100\%;$$

$$\text{Pregnancy index} = \frac{\text{number of pregnant females}}{\text{total number of the females}} \times 100\%.$$

The samples of tissue of epiphysis, hypothalamus for light microscopy of semi-thin slices were prepared according to the traditional method and recommendations [12]. The model of EPS strengthened with perio-dic immobilization was achieved for the animals with the initiation of pain excitations by means of electric current [5]. Hypothermic effect was performed by original device via which a cooled air (–4...–6°C) was supplied into the chambers with the animals at the frequencies of effects of 0.1-9.2 Hz (rhythmic hypothermia). The secretion level of ³H-norepinephrine (NE) and ³H-serotonin (ST) in epiphysis was measured with radio isotopic method.

лоджене повітря ($-4...-6^{\circ}\text{C}$) в камери з тваринами при частоті впливів 0,1-0,2 Гц (ритмічна гіпотермія). Рівень секреції ^3H -норадреналіну (НА) та ^3H -серотоніну (СТ) в епіфізі визначали радіоізотопним методом.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили методом Стьюдента-Фішера з використанням пакетів програм Excel і Statistika.

Результати і обговорення

Загальноприйнята думка, що виникнення регулярного статевого циклу залежить від двох функціонально відмінних систем: гіпоталамо-гіпофізарної та гонадної. При вивченні естрального циклу за вагінальними мазками щурів була визначена його тривалість – 4,2 доби. Період тички (проеструс+еструс) становив $1,64\pm 0,09$ доби або 42% від усього циклу і був коротшим, ніж міжтічкова фаза (метаеструс+діеструс) з тривалістю $2,85\pm 0,08$ доби або 55%. Підрахунок примордіальних фолікулів показав, що їхня кількість була найменшою у проеструсі. Кількість преантральних і багатопорожнинних фолікулів вірогідно не розрізнялася протягом усього циклу, в еструсі та метаеструсі кількість преовуляторних фолікулів була мінімальною. Про овуляцію, яка відбулася у період проеструсу, свідчили зниження кількості преовуляторних фолікулів та збільшення кількості жовтих тіл. Протягом усього естрального циклу помічено інтенсивне зростання фолікулів, а зміна кількості генеративних елементів у гонадах щурів визначалась стадіями оваріального та естрального циклів і відповідним гормональним статусом. Уранці після спаровування у всіх самок щурів, яких на стадії проеструсу підсаджували до самців, у вагінальних мазках виявлено сперматозоїди. При цьому індекс плідності склав 100%, наявність вагітності відзначена в 100% випадків. Виявлені циклічні зміни вмісту ФСГ, ЛГ і Е в периферичній крові співпадають з даними [2].

У групі самок щурів після ЕБС визначалось інгібування фолікулогенезу в яєчниках щурів протягом 16 діб, тобто трьох циклів. У яєчниках тварин після 2-3-х стресових впливів зростаючі фолікули зазнавали атрофічних змін і не досягали преовуляторної стадії розвитку. Лише на 15-17-у добу після ЕБС в яєчниках щурів спостерігалось збільшення кількості зростаючих фолікулів. Гістологічне дослідження яєчників проводилось в ті ж строки, що й гормонів. Збільшення кількості всіх видів оваріальних фолікулів спостерігалось у перші 4 доби після РКЦГ, тобто через 5 діб після ЕБС. На 8-9-у добу спостереження у експериментальних тварин істотно збільшилася кількість зростаючих фолікулів, жовтих тіл, що свідчило про можливу овуляцію між 5 і 8 добою, хоча кількість жовтих тіл звичайно менша, ніж у інтактних тварин. Постімплантаційна

The results were statistically processed with Student-Fisher's method using the Excel and Statistika software.

Results and discussion

The traditional notion that the appearance of regular sexual cycle depends on two functionally different systems: hypothalamus-hypophysis and gonad. When studying estrous cycle on rat's vaginal smears there was found its duration, it was 4.2 days. The heat period (proestrus + estrus) made 1.64 ± 0.09 days or 42% in respect of total cycle and was less than between-estruation phase (metaestrus+diestrus) with the duration of 2.85 ± 0.08 days or 55%. Counting of primordial follicles has shown that their number was lower in proestrus. The amount of preantral and multi-cavity follicles did not statistically significant differ during the whole cycle, in estrus and metaestrus the number of pre-ovulatory follicles was minimal. The ovulation during proestrus period was judged on the reduced number of pre-ovulatory follicles and increased amount of yellow bodies. During the whole estrous cycle there was found an intensive increase of follicles, and the change in the number of generative elements in rat's gonads was manifested at the stages of ovarial and estrous cycles as well as corresponding hormonal status. In the morning after coupling in all female rats which at the proestrus stage were placed to males there were found the spermatozoa in vaginal smears. Herewith the fertility index was 100%, the presence of pregnancy was found in 100% cases. Revealed cyclic changes of FSH, LG and estradiol in peripheral blood coincide with the data [2].

In group of female rats after EPS the inhibition of follicle genesis in rat's ovaries within 16 days, that is during 3 cycles. In ovaries of the animals after 2-3 stress effects the growing follicles were underwent atrophic changes and did not reach preovulatory development stage. Only at 15-17 days after EPS in rat's ovaries the increase of the number of growing follicles was noted. Histological studies of ovaries were done at the same terms as those for hormones. The rise in the number of all types of ovarial follicles was observed in the first 4 days after RCCH, that is in 5 days after EPS. To the 8-9 observation day in experimental animals the amount of growing follicles, yellow bodies significantly increased, this testified to a possible ovulation between 5 and 8 days, though the number of yellow bodies was usually lower than in intact animals. Post-implantation death of embryos in female rats after EPS reached 30% and 3.1% after following RCCH. The change hormonal level in peripheral blood reflect the general tendency to the state alteration of reproductive system in female rats. The level of LH, FSH and estradiol increased directly after RCCH and exceeded their level after EPS. Herewith the level of LH and

загибель ембріонів у самок-щурів після ЕБС досягала 30%, а після наступної РКЦГ – 3,1%. Зміна рівня гормонів у периферичній крові ототожнювала загальну тенденцію до зміни стану репродуктивної системи самок-щурів. Рівень ЛГ, ФСГ і Е підвищувався безпосередньо після РКЦГ та перевищував їх рівень після ЕБС. При цьому рівень ЛГ і ФСГ був вище, ніж у контрольній групі тварин на стадії еструса, тоді як рівень Е був значно нижче. У подальший термін спостереження відзначалося вирівнювання співвідношення досліджуваних гормонів, що особливо помітно по співвідношенню ЛГ і ФСГ (таблиця).

Важливу роль у формуванні циклічних процесів відіграє епіфіз-нейроендокринний трансдуктор, який разом з гіпоталамусом відповідає за первинне сприйняття режиму навколишнього середовища і на реакцію гонад на цілий ряд змін як у зовнішньому, так і внутрішньому середовищах [7,8]. Пригнічення серотонін-ергічної активності в структурах мозку на різних етапах естрального циклу як інгібує, так і стимулює естральну поведінку щурів. Після ЕБС в значно більшій мірі, ніж після РКЦГ, зростала секреція серотоніну в епіфізі і гіпоталамусі. Після ЕБС та наступного впливу РКЦГ секреція медіатора знижувалась в гіпоталамусі, а в епіфізі була така, як у інтактних тварин. На напівтонких зрізах гіпоталамуса експериментальних тварин після ЕБС структура тканини переднього відділу гіпоталамуса має деякі відмінності від контрольних зразків. Спостерігаються ледь помітний периваскулярний набряк, розпушення базальних мембран капілярів і дрібних артеріол; судинний ендотелій має ознаки реактивності з закругленням перинуклеарної частини клітин та її випинанням у просвіт судини. При мікроскопічному дослідженні встановлено, що після застосування РКЦГ стан тканини переднього відділу гіпоталамуса близький до нормального. У результаті хронічного ЕБС у тканині епіфіза відзначаються прояви набряку гліальних клітин та їх відростків. Виявляються ознаки периваскулярного набряку з незначним розпушенням базальної мембрани кровоносних капілярів. Після РКЦГ на 9-у добу морфологічний стан практично не відрізняється від початкового.

Встановлено, що після дії РКЦГ знизився тонус вегетативної нервової системи [1, 9, 11]. Послідовні впливи ЕБС і РКЦГ сприяли зміні вегетативних реакцій у напрямку вегетативної ейтонії, яка супро-

Рівень гормонів у периферичній крові експериментальних тварин при стресі та після РКЦГ (n= 10)
Hormone level in peripheral blood of experimental animals under stress and after RCCH (n=10).

Дія Effect	Естрадіол, МО Estradiol, IU	ЛГ/ФСГ LH/FSH	ФСГ, н/л FSH, n/l	ЛГ, н/л LH, n/l
Початковий рівень Initial level	0,368±0,022*	1,33±0,12	4,10±0,59	5,46±0,63
РКЦГ RCCH	0,286±0,022*	1,36±0,1	4,408±0,52	6,01±0,86
Стрес Stress	0,197±0,004*	2,09±0,41	3,57±0,45	5,94±0,69
Стрес + РКЦГ Stress + RCCH	0,22±0,02	2,17±0,56	4,64±1,07	8,12±0,81
5-та доба 5th day	0,242±0,01*	0,93±0,12*	2,9±0,29*	2,66±0,40*
8-ма доба 8th day	0,213±0,06*	0,86±0,17*	3,33±0,30	2,96±0,88*

Примітка: * – достовірна різниця з початковим рівнем, p<0,05.

Notes: * – significant differences comparing to initial level, p<0.05.

FSH was higher if compared with the control group of animals at estrus stage, meanwhile the estradiol level was significantly lower. During more distant observation term there was found a leveling of the ratio of studied hormones, that is especially notable on the LH and FSH ratio (Table).

Epiphysis as neuroendocrine transducer, being responsible together with hypothalamus for initial perception of environmental regimen and gonad response to some changes in both external and internal environments plays an important role in cyclic process formation [7, 8]. Suppression of serotonergic activity in brain structures at different stages of estrous cycle both inhibits and stimulates an estrous behaviour in rats. Serotonin secretion in epiphysis and hypothalamus was much more increased after EPS than RCCH, After EPS and following RCCH effect the mediator secretion decreased in hypothalamus, but remained the same in epiphysis as in intact rats. In semithin hypothalamus sections of experimental animals after EPS the tissue structure of anterior hypothalamus has some differences compared to the control samples. A slightly noted perivascular oedema, loosening of basal membranes of capillaries and small arterioles are observed, a vascular endothelium has signs of reactivity with rounding in perinuclear cell part and its protrusion into a vessel lumen. Microscopic research has revealed the fact that after RCCH application the state of anterior hypothalamus tissue was close to the normal. As a result of chronic EPS in epiphysis tissue the signs of oedema of glial tissue and their outgrowths are noted. The signs of perivascular oedema with insignificant loosening of basal membrane of blood capillaries are revealed. After RCCH to the 9th day a morphological state does not practically differ from the initial one.

воджується рівноспрямованим зниженням тону симпатичної нервової системи й активності парасимпатичних впливів. За одержаними результатами досліджень можна зробити висновок, що нейромедіаторні, вегетативні, функціональні процеси проникності гістогематичних бар'єрів при стресі та холодових впливах у деякій мірі залежать один від одного. Взаємозв'язок центрів регуляції та периферії, взаємодія симпатичних і парасимпатичних відділів нервової системи реалізуються також і через механізми зворотного зв'язку, в основі якого знаходяться функції гістогематичних бар'єрів.

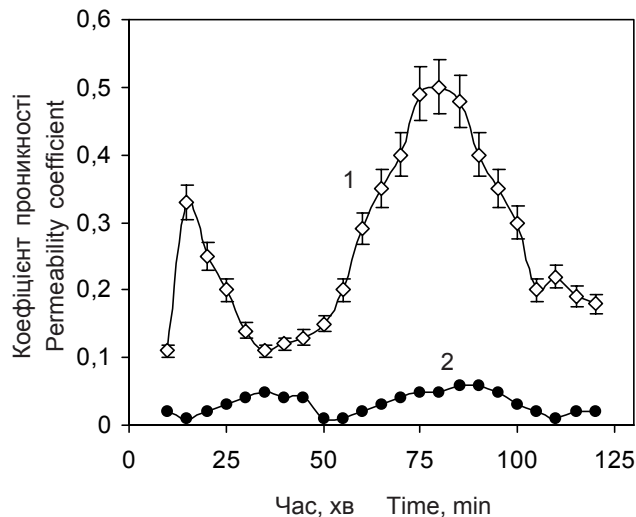
При розгляді протифазності та розходження піків проникності норадреналіну і серотоніну слід враховувати як необхідність конкретного медіатора, так і його функціональну значимість для процесів адаптації та участі в терморегуляторних реакціях (рисунк). Однак температура тіла при РКЦГ практично не змінюється та коливається у межах нормотермії. Очевидно, що при РКЦГ механізми зміни проникності ГЕБ компенсовані та не мають вираженого стресового компонента.

Висновки

Таким чином, проведені дослідження виявили можливість корекції порушень циклічних процесів репродуктивної системи за допомогою ритмічних холодових впливів. Результати експериментів підтвердили можливість практичного обґрунтування необхідності спрямованого терапевтичного впливу на центральну ланку регуляції репродуктивних процесів при порушеннях, у генезі яких домінує психоемоційний стрес. Адекватним методом такої терапії є РКЦГ, яка дозволяє спрямовано й дозовано впливати на центральну, гуморальну й периферичну ланки регуляції циклічних процесів репродуктивних функцій.

Література

1. Бабийчук Г.А., Марченко В.С., Марченко Л.Н., Полищук Л.В. К концепции экзистенцефалической системы охлажденного мозга // Пробл. криобиологии.— 2000.— №3.— С. 21-26.
2. Бабичев В.Н. Нейроэндокринология репродуктивной системы // Пробл. эндокринологии.— 1998.— Т. 44, №1.— С. 3-12.
3. Бесплодие в супружестве / Под ред. И.Ф. Юнды.— Киев, 1990.— 464 с.
4. Бородин А.Д., Фролов С.С., Вербовой П.П. Патогенетическая связь мужских и женских факторов при бесплодии обоих супругов // Медико-социальные проблемы семьи.— 1998.— №2.— С. 50-54.
5. Ведяев Ф.П., Воробьева Т.М. Модели и механизмы эмоциональных стрессов.— Киев: Здоров'я, 1983.— 136 с.
6. Вихляева Е. М., Железнов Б. И., Запорожан В. Н. и др. Руководство по эндокринной гинекологии.— Ярославль, 1997.— 768 с.



Динаміка змін проникності ГЕБ (передній гіпоталамус) при РКЦГ: 1 – НА; 2 – СТ.

Dynamics of changes in BBB permeability (anterior hypothalamus) at RCCH; 1 – NE; 2 – ST.

After RCCH effect the tonus of vegetative nerve system was established as decreased [1, 9, 11]. EPS and RCCH gradual effects contributed to change in vegetative responses towards vegetative eutony, accompanying with an equidirectional reduction of sympathetic nerve system tonus and parasympathetic effect activity.

The obtained research results may suggest that the neuromediator, vegetative, functional processes of histohematic barrier permeability under stress and cold effects depend more or less on each other. The relationship of regulation centers and periphery, the interaction of sympathetic and parasympathetic nervous system compartments are also realised through the feedback mechanisms, based on histohematic barrier functions.

When considering the phase opposition and divergence of permeability peak of norepinephrine and serotonin both necessity of specific mediator and its functional significance of adaptation processes and participation in thermoregulator responses should be taken into account (Figure). However, the body temperature under RCCH does not practically change and varies within normometry limits. Under RCCH the mechanisms of BBB permeability change are evidently compensated and have no manifested stress component.

Conclusions

Thus, the research performed has revealed the possibility to correct the disorders of cyclic processes of reproductive system using rhythmic cold effects. Experimental results confirmed the possibility of practical substantiation of necessity in a directed therapeutic

7. Грищенко В.И. Роль эпифиза в физиологии и патологии женской половой системы.– Харьков, 1979.– 248 с.
8. Громова Е.А. Серотонин и его роль в организме.– М.: Медицина, 1966.– С. 160-162.
9. Ершова О.В., Грищенко В.И., Ломакин И.И. Механизмы действия триггерной гипотермии в терапии "психосоматического бесплодия" // Пробл. криобиологии.– 2001.– №3.– С. 80-81.
10. Жерновая Я.С. Особенности нарушений репродуктивного и сексуального здоровья при эндокринном бесплодии женщин (клиника, интегративная оценка, система коррекции): Автореф. дис. ... докт. мед. наук.– Киев, 1995.– 41 с.
11. Марченко В.С., Бабийчук В.Г., Ломакин И.И. и др. Проницаемость гематоэнцефалического барьера для кардиотропных лекарственных веществ при краниocereбральной гипотермии // Пробл. криобиологии.– 1998.– №2.– С.42-45.
12. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники.– М.: Медгиз, 1986.– 246 с.

Поступила 08.05.2007

effect on central link of reproductive processes regulation under disorders, where psychoemotional stress is dominant. An adequate method of this therapy is RCCH, enabling to affect in a direct and dosed ways the central, humoral and peripheral links of cyclic processes regulation of reproductive functions.

References

1. Babiychuk G.A., Marchenko V.S., Marchenko L.N., Polischuk L.V. On the concept of the existoencephalic system of the cooled brain // Problems of Cryobiology.– 2000.– N3.– P. 21-26.
2. Babichev V.N. Neuroendocrinology of reproductive system // Problemy Endokrinologii.– 1998.– Vol. 44, N1.– P. 3-12.
3. *Infertility in marriage* // Ed. by Yunda I.F.– Kiev, 1990.– 464 p.
4. Borodin A.D., Frolov S.S., Verbovoy P.P. Pathogenic relation of male and female factors at infertility of both marriage partners // Mediko-sotsialnye problemy semji.– 1998.– N2. P. 50-54.
5. Vedyayev F.P., Vorobyova T.M. Models and mechanisms of emotional stresses.– Kiev: Zdorovya, 1983. – P.136.
6. Vikhlyayeva E.M., Zhelezynov B.I., Zaporozhan V.N. et al. Manual of endocrine gynecology. – Yaroslavl, 1997. – P.768.
7. Grischenko V.I. Epiphysis role in physiology and pathology of female sexual system.– Kharkov, 1979. – 248 p.
8. Gromova E.A. Serotonin and its role in organism. Moscow: Medicine, 1966.– P.160-162.
9. Ershova O.V., Grischenko V.I., Lomakin I.I. Mechanisms of action of trigger hypothermia in therapy of "psychosomatic infertility" // Problems of Cryobiology.– 2001.–N3. – P.80-81.
10. Zhernovaya Ya. S. Peculiarities of impairments of reproductive and sexual health at endocrine female infertility (clinic, integrative assessment, correction system): Author abstract of the thesis of doctor of medical sciences.– Kiev, 1995.– 41 p.
11. Marchenko V.S., Babiychuk V.G., Lomakin I.I. et al. Permeability of the blood-brain barrier to cardiotropic drugs during craniocerebral hypothermia // Problems of Cryobiology.– 1998.– N2.– P. 42-45.
12. Merkulov G.A. Course of pathohistological techniques.– Moscow.: Medgiz, 1986.– 246 с.

Accepted in 08.05.2007