

АКТИВНІСТЬ NAD·H-ГЕНЕРУЮЧИХ ЕНЗИМІВ ТА ВМІСТ ЦИТОХРОМІВ У МІТОХОНДРІЯХ ПЕЧІНКИ ТА МІОКАРДА ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГІПОБІОЗУ

С. Д. МЕЛЬНИЧУК, С. В. ХИЖНЯК, В. С. МОРОЗОВА, В. М. ВОЙЦІЦЬКИЙ

Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;
e-mail: director@quality.ua

Виявлено особливості модифікації структурно-функціонального стану внутрішньої мембрани мітохондрій печінки та міокарда щурів за експериментального гіпобіозу з використанням гіпокси-гіперкапнічних газових середовищ за зниження температури тіла. Під час експериментального гіпобіозу знижується активність NAD·H-генеруючих ензимів циклу Кребса мітохондрій печінки. Зміна активності ензимів та вмісту цитохромів внутрішньої мембрани мітохондрій печінки свідчить про зниження окислювальної активності дихального ланцюга, що може лімітуватись на термінальній (цитохром с-оксидазній) ділянці та призводити до зниження (в середньому на 49%) H^+ -АТРазної активності мітохондрій. Для міокарда щурів за гіпобіозу встановлено зростання (в середньому на 65%) сукцинат-КоQ-оксидоредуктазної активності, що обумовлює підтримку функціональної активності дихального ланцюга, враховуючи наближену до контролю величину цитохром с-оксидазної та H^+ -АТРазної активності мітохондрій. Структурні перебудови внутрішньої мембрани мітохондрій печінки та міокарда в умовах експерименту супроводжуються підвищенням гідрофобності в оточенні триптофанілів та внутрішньомолекулярними конформаційними перебудовами протеїнових молекул.

Ключові слова: експериментальний гіпобіоз, печінка, міокард, мітохондрії, мембрани, комплекси дихального ланцюга, цитохроми, флуоресценція.

Актуальною проблемою біології та практичної медицини залишається дослідження адаптації тварин, у тому числі людини, до низьких температур довкілля. Штучна гіпотермія широко використовується в медичній практиці з метою лікування та реабілітації після різноманітних захворювань, операцій тощо [1, 2]. Це пов'язано зі значним зниженням обміну речовин і використанням кисню за зниженої температури та подальшим відновленням фізіологічних функцій після нормалізації температури.

Стан експериментального гіпобіозу для гомойотермних тварин можна створювати із використанням гіпокси-гіперкапнічних газових середовищ, знижуючи температуру тіла до 14–23 °С [3, 4]. Формування експериментального гіпобіозу веде до гіпометаболізму, що супроводжується зниженням енергозабезпечення теплорегулюючого організму.

Одним з основних факторів регулювання окисного фосфорилування в органах та тканинах є здатність мітохондрій швидко реагувати на зміни в клітині метаболітів енергетичного обміну [5]. Це обумовлює різнобічне дослідження протікання біоенергетичних процесів, у тому числі функціонального стану

мітохондрій в умовах формування експериментального гіпобіозу. Основною системою перетворення енергії в мітохондріях еукариотичних організмів є дихальний ланцюг – система протеїнових комплексів, що розташовані на внутрішній мембрані мітохондрій. За їх функціонування відбувається послідовне окислення та відновлення комплексів дихального ланцюга, що пов'язане з синтезом АТФ [6].

Метою роботи було визначення вмісту цитохромів груп *b*, *c*, *a* та активності ензимів мітохондрій, а також оцінка структурного стану протеїнової компоненти внутрішньої мембрани мітохондрій печінки та міокарда щурів в умовах експериментального гіпобіозу.

Матеріали і методи

У дослідах використовували білих безпородних щурів-самців масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Тварин було поділено на дві групи (по 7 особин у кожній): група 1 – контроль (утримували при 18–20 °С); група 2 – стан експериментального гіпобіозу. Всі процедури із тваринами проводилися відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які

використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1985) та відповідно загальним етичним принципам експериментів на тваринах, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

Для введення піддослідних тварин у стан експериментального гіпобіозу використовували метод Бахметьєва–Джайя–Анжуса [3]. Тварин поміщали в герметично закриту камеру об'ємом 3 дм³ та температурою 3–4 °С. Протягом перебування тварин у камері за таких умов змінюється склад газового середовища: розвивається гіперкапінія (зростає вміст вуглекислого газу) та гіпоксія (зменшується рівень кисню). Через 3–3,5 год (в залежності від індивідуальних особливостей) у тварин знижується ректальна температура з 37 до 17 °С; зменшується частота серцевих скорочень з 380 до 80 ударів/хв; повністю втрачається рухомість, реакція на больовий подразник та зникає рефлекс на положення, що свідчить про розвиток у тварин стану гіпобіозу. Далі тварин першої групи (контроль) декапітували у стані нормотермії (t° тіла 37 °С), а другої групи – у стані гіпобіозу (t° тіла 17 °С).

Мітохондрії (Мх) та препарати внутрішньої мембрани мітохондрій (ММх) печінки та міокарда отримували методом диференційного центрифугування згідно з рекомендаціями [7]. Вміст протеїну в досліджуваних препаратах визначали методом Лоурі та співавт. [8].

Для визначення вмісту цитохромів груп *b*, *c* і *a* ММх реєстрували абсорбцію цитохромів у відновленому та окисленому станах у ділянках спектральних максимумів як описано [9]. Активність малатдегідрогенази (1.1.1.37), α-кетоглутаратдегідрогенази (1.2.4.2.) та сукцинатдегідрогенази (1.3.99.1.) визначали методами [10]. У препаратах ММх спектрофотометричним методом визначали активність NADH-КоQ-оксидоредуктази (1.6.99.3.) – I комплекс дихального ланцюга [11], цитохром *c*-оксидази (1.9.3.1.) – IV комплекс дихального ланцюга [12] та H⁺-АТРази (3.6.1.4.) [13].

Інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків мембранних протеїнів реєстрували при 338 нм за довжини хвилі збудження – 296 нм, в середовищі, яке містило 0,1 М КСl, 5 мМ трис-НСl, на спектрофлуориметрі Shimadzu-RF510 (Японія). Суспензію мембран (0,1 мг/мл в об'ємі 2 мл) титрували розчином гідрофільного гасника – акриламідю – до кінцевої концентрації 0,4 М. Дані щодо гасіння наводили в модифікованих

координатах Штерна – Фольмера ($F_0/F_0 - F$ від [Q]), з яких визначали гасіння флуоресценції мембранних протеїнів за допомогою рівняння:

$$\frac{F_0}{F_0 - F} = \frac{1}{\beta K_{sv}[Q]} + \frac{1}{\beta},$$

де F_0 і F – інтенсивність флуоресценції за відсутності та у присутності гасника, Q – концентрація гасника, K_{sv} – константа гасіння Штерна–Фольмера, β – частка флуоресценції, яка підлягає гасінню. Флуоресцентні вимірювання та розрахунки проводили як описано [14].

Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Вірогідність відмінностей між показниками експериментальної і контрольної груп оцінювали за *t*-критерієм Стьюдента.

Результати та обговорення

Дослідження активності NAD-H-генеруючих ензимів циклу Кребса (малатдегідрогенази та α-кетоглутаратдегідрогенази), функціонування яких приводить до постачання електронно-транспортного ланцюга NAD-H, свідчить, що за експериментального гіпобіозу їх активність для Мх печінки знижується на 20–24%, а для Мх міокарда на 10–13% відносно контролю (табл. 1).

Оцінка функціональної активності I та II комплексів (початкові етапи окислення NADH та сукцинату) за активністю відповідних ензимів показала, що за штучного гіпобіозу для ММх печінки відмічено незначне зростання активності NADH-КоQ-оксидоредуктази (близько 10%) та сукцинат-КоQ-оксидоредуктази в середньому на 15% (табл. 1). Для ММх міокарда активність сукцинат-КоQ-оксидоредуктази зростає на 65% відносно контролю (табл. 1). Цитохром *c*-оксидаза є термінальною оксидазою дихального ланцюга, у разі змін функціонування якої блокується весь ланцюг транспорту електронів, що призводить до порушення мітохондріального дихання. За штучного гіпобіозу для ММх печінки активність цього ензиму зменшується в середньому на 24%, а ММх міокарда – достовірно не змінюється порівняно з контролем (табл. 1).

Транспорт електронів у дихальному ланцюзі в значній мірі забезпечують переносники електронів – цитохроми [5]. Результати визначення їх вмісту в препаратах ММх у присутності субстратів дихального ланцюга

Таблиця 1. Ензиматична активність мітохондрій печінки та міокарда щурів за експериментального гіпобіозу ($M \pm m$, $n = 7$)

Ензим	Печінка		Міокард	
	Контроль	Гіпобіоз	Контроль	Гіпобіоз
α -Кетоглутаратдегідрогеназа, нмоль NAD·H/хв·мг протеїну ⁽¹⁾	70,2 ± 6,6	56,0 ± 5,2*	47,2 ± 4,1	42,5 ± 4,1
Малатдегідрогеназа, нмоль NAD·H/хв·мг протеїну ⁽¹⁾	166,9 ± 14,1	127,6 ± 11,1*	116,8 ± 11,1	102,1 ± 10,1
NADH-КоQ-оксидоредуктаза, мкмоль відн. убіхінолу/хв·мг протеїну ⁽²⁾	123,2 ± 10,1	135,1 ± 14,2	—	—
Сукцинат-КоQ-оксидоредуктаза, нмоль фериціаніду/хв·мг протеїну ⁽²⁾	152,5 ± 30,0	175,9 ± 31,6*	172,8 ± 17,1	284,9 ± 24,3*
Цитохром <i>c</i> -оксидаза, мкмоль ок. цитохрому <i>c</i> /хв·мг протеїну ⁽²⁾	41,1 ± 4,0	31,2 ± 2,9*	28,5 ± 2,2	24,8 ± 2,5
H ⁺ -АТРаза, мкмоль P _i /хв·мг протеїну ⁽²⁾	0,5 ± 0,05	0,3 ± 0,02*	0,8 ± 0,1	0,7 ± 0,1

Примітка: активність мітохондрій (1) та внутрішньої мембрани мітохондрій (2). * $P \leq 0,05$ відносно контролю

(NAD·H чи NAD·H+сукцинат) представлено в табл. 2.

Встановлено, що для ММх печінки піддослідних тварин за штучного гіпобіозу, вміст цитохромів групи *b* знижується на 13–14% відносно контролю за використання NAD·H або NAD·H+сукцинат. Вміст цитохромів c_1+c за використання цих субстратів змінюється невірогідно. Водночас, спостерігається зниження вмісту цитохромів $a+a_3$ у ММх печінки за використання субстрату NAD·H в середньому на 32%, а NAD·H та сукцинату — на 29% відносно контролю (табл. 2).

У препаратах ММх міокарда тварин вміст цитохрому групи *b* зростає на 10–13% відносно контролю за використання обох субстратів.

Кількість цитохромів c_1+c за використання NAD·H зменшується в середньому на 17%, а у разі використання субстратів (NAD·H + сукцинат) — на 19% відносно контролю. Водночас, вміст цитохромів $a+a_3$ у препаратах ММх за використання як NADH, так і NAD·H+сукцинат зростає на 23% відносно контролю (табл. 2).

Для зборки каталітичного кору та функціонування III комплексу ММх поряд із Fe-S-вмісними протеїнами необхідні цитохроми групи *b*, які кодуються геномом мітохондрій [15]. Зміни вмісту цих цитохромів в умовах гіпобіозу незначні. Цитохроми групи *c* відрізняються своєю лабільністю у відношенні до мембрани, здатністю до індукованого відновно-окисного переходу тощо [6]. Цито-

Таблиця 2. Вміст цитохромів (мкмоль цитохрому/мг протеїну) мембранних препаратів мітохондрій печінки та міокарда щурів за експериментального гіпобіозу ($M \pm m$, $n = 7$)

Цитохроми		Печінка		Міокард	
		Контроль	Гіпобіоз	Контроль	Гіпобіоз
<i>b</i>	1	4,6 ± 0,4	3,9 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,6 ± 0,3
	2	11,0 ± 1,0	9,5 ± 0,8	6,3 ± 0,6	6,9 ± 0,6
$c+c_1$	1	9,8 ± 0,8	9,5 ± 0,9	14,9 ± 1,2	12,2 ± 1,1*
	2	20,4 ± 2,0	23,7 ± 2,1	29,1 ± 2,8	23,5 ± 2,1*
$a+a_3$	1	17,4 ± 1,6	11,8 ± 1,0*	11,8 ± 1,1	14,4 ± 1,3
	2	38,5 ± 3,7	27,6 ± 2,5*	20,6 ± 2,1	25,4 ± 2,2

Примітка: субстрат – NAD·H (1) та NAD·H + сукцинат (2). * $P \leq 0,05$ відносно контролю.

хром c_1 асоційований з функціонуванням III комплексу, а цитохром c лабільно зв'язаний із внутрішньою мембраною мітохондрій і бере участь у реакціях перенесення електронів [6]. Можливо зменшення їх вмісту у ММх міокарда обумовлено модифікаціями внутрішньої мембрани мітохондрій. Цитохроми групи a входять до IV комплексу дихального ланцюга мітохондрій, в якому перенесення електронів завершується передачею їх на кінцевий акцептор – молекулярний кисень [6]. За умов гіпобіозу для ММх печінки спостерігається зниження активності цитохром c -оксидази поряд зі зменшенням вмісту цитохромів $a+a_3$. Для ММх міокарда функціонування цього комплексу дихального ланцюга подібне до контрольних значень, враховуючи активність ензиму та вміст цитохромів $a+a_3$ (табл. 1, 2).

За гіпобіозу активність H^+ -АТРази, яка використовує енергію трансмембранного електрохімічного градієнта протонів, що формується завдяки роботі комплексів електронно-транспортного ланцюга, знижується в ММх печінки в середньому на 49%, а ММх міокарда – на 16% відносно контролю (табл. 1).

Відомо, що основу функціональної активності біологічної мембрани складають протеїн-ліпідні взаємодії, які залежать від структурної організації протеїнових молекул в мембрані [16]. Це обумовило подальше дослідження структурного стану ММх тварин у стані гіпобіозу.

Власну флуоресценцію протеїнів у разі збудження в ультрафіолетовій області спектра найбільшою мірою обумовлює наявність триптофанових залишків. Виявлене зростання інтенсивності флуоресценції (на 20–22%) для препаратів ММх печінки та міокарда (табл. 3), може бути зумовлено конформаційними перебудовами протеїнових молекул, які супроводжуються переходом триптофанових

залишків у більш гідрофобну область, а також внутрішньомолекулярною динамікою протеїнових молекул [16].

Для оцінки конформаційного стану протеїнових молекул досліджували гасіння триптофанової флуоресценції нейтральним полярним гасником – акриламідом. Аналіз даних щодо гасіння в модифікованих координатах Штерна–Фольмера дозволяє визначити частку флуоресценції триптофанових залишків (β), яка доступна для гасіння, та ефективну константу гасіння (K_{sv}), зміни якої демонструють структурну динаміку протеїнових молекул [14]. Слід враховувати, що використання модифікованого рівняння Штерна–Фольмера передбачає існування двох типів флуорофорів – доступних чи недоступних гасінню. Тому відмінності значення β від одиниці лише свідчать про існування певної кількості триптофанових залишків, які недоступні для гасіння [17].

За умов гіпобіозу частка доступних для гасіння триптофанових залишків протеїнових молекул мембран не змінюється. Ефективність гасіння триптофанової флуоресценції акриламідом передусім залежить від швидкості дифузії гасника всередину протеїнової матриці, що обумовлено флуктуацією, тобто конформаційною динамікою [14, 17]. Для препаратів ММх печінки встановлено зниження величини K_{sv} на 30%, що свідчить про зменшення рухливості протеїнових молекул, тобто підвищення їх внутрішньомолекулярної жорсткості. Для препаратів ММх міокарда відмічено зростання величини K_{sv} на 20% відносно контрольних значень, що свідчить про зростання внутрішньомолекулярної рухливості протеїнових молекул у мембрані, яке може забезпечувати їх функціональну активність.

Таблиця 3. Показники гасіння акриламідом триптофанової флуоресценції мембранних препаратів мітохондрій печінки та міокарда щурів за експериментального гіпобіозу ($M \pm m$, $n = 7$)

Умови досліджу	Печінка		Міокард	
	Контроль	Гіпобіоз	Контроль	Гіпобіоз
Інтенсивність триптофанової флуоресценції, відн. од.	1,00 ± 0,02	1,22 ± 0,04*	1,00 ± 0,02	1,20 ± 0,03*
Частка доступних гасінню триптофанових залишків	0,61 ± 0,04	0,59 ± 0,03	0,57 ± 0,03	0,63 ± 0,04
Константа Штерна–Фольмера (K_{sv}), M^{-1}	5,11 ± 0,38	3,60 ± 0,16*	4,76 ± 0,36	5,66 ± 0,48*

* $P \leq 0,05$ відносно контролю.

Таким чином, структурні перебудови протеїнів ММх печінки та міокарда під час експериментального гіпобіозу тварин супроводжуються зниженням експонування триптофанових залишків на поверхні мембран та конформаційними модифікаціями протеїнових молекул, що може призводити до змін просторової організації протеїн-ліпідних комплексів мембрани та впливати на їх функціонування.

Функціональну активність мітохондрій, перш за все, забезпечує їхня внутрішня мембрана, яка містить компоненти електронно-транспортного (дихального) ланцюга та зворотну H^+ -АТФазу [6]. За умов гіпобіозу для мітохондрій клітин печінки тварин показано пригнічення активності NAD \cdot H-генеруючих ензимів, а також окислювальної активності дихального ланцюга, що може лімітуватись на термінальній цитохром *c*-оксидазній ділянці, та знижувати H^+ -АТФазу активність. Незначне зростання активності ензимів I та II комплексів дихального ланцюга, можливо, носить компенсаторний характер. Наведені результати узгоджуються з результатами, одержаними раніше (за проведення полярографічних досліджень [18]), і свідчать про зниження окислювальної та фосфорилуючої активності мітохондрій, а також про роз'єднання процесів їх спряження, що впливає на АТФ-гідролазну активність. Враховуючи, що печінці належить одна із центральних ролей у забезпеченні енергетичних та пластичних потреб організму, ймовірно внаслідок гіпобіозу печінка включається в термостабілізацію організму, як це було показано в умовах адаптації тварин до холоду [19].

На відміну від печінки, для мітохондрій міокарда тварин не виявлено подібних змін активності NAD \cdot H-генеруючих ензимів та окислювальної активності дихального ланцюга, враховуючи відсутність змін цитохром *c*-оксидазної активності. Поряд з цим, встановлено активацію II комплексу (сукцинатзалежного) дихального ланцюга мітохондрій. В умовах гіпобіозу зростання використання сукцинату, ймовірно, призводить до підтримки функціональної активності дихального ланцюга на достатньому енергетичному рівні, про що свідчать зміни АТФ-синтетазної активності. Підтвердженням цього є і результати попередніх досліджень, в яких за використання сукцинату не спостерігалось роз'єднання процесів спряження дихання та фосфорилування, а також підтримувався високий рівень АТФ-гідролазної активності [20].

Одержані результати дозволяють припустити, що на зниження рівня кисню в умовах штучного гіпобіозу мітохондрії міокарда, можливо, реагують активацією сукцинатзалежного окислення для забезпечення енергетичних потреб, яке сприяє економному використанню кисню електрон-транспортним ланцюгом. У роботах [1, 21] відмічається, що під час стрес-реакцій та різних екстремальних станів (у тому числі гіпобіотичних) в організмі виникають певні умови регуляції, які приводять до переважання використання дихальним ланцюгом сукцинату над NAD-залежними субстратами окислення. Відновлюється процес перетворення субстратів у циклі Кребса та відповідно додатково зростає надходження багатих енергією сполук. Крім того, можливо, сукцинат одночасно відновлює і NAD-залежну систему окислення в циклі Кребса [1].

Результати досліджень дозволяють відмітити особливості модифікації структурно-функціонального стану внутрішньої мембрани мітохондрій печінки та міокарда щурів в умовах експериментального гіпобіозу. Оскільки регуляція активності мембранозв'язаних ензимів відбувається на рівні молекулярних взаємодій протеїнових та ліпідних молекул, наведені результати функціональної активності ензимів ММх печінки та міокарда співвідносяться із встановленими порушеннями протеїн-ліпідних взаємодій в мембрані за експериментального гіпобіозу.

АКТИВНОСТЬ NAD \cdot H-ГЕНЕРИРУЮЩИХ ЭНЗИМОВ И СОДЕРЖАНИЕ ЦИТОХРОМОВ В МИТОХОНДРИЯХ ПЕЧЕНИ И МИОКАРДА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ГИПОБИОЗЕ

С. Д. Мельничук, С. В. Хижняк, В. С. Морозова, В. М. Войццкий

Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, Киев;
e-mail: director@qualit.ua

Установлены особенности модификации структурно-функционального состояния внутренней мембраны митохондрий печени и миокарда крыс при экспериментальном гипобиозе с использованием гипоксии-гиперкапнических газовых сред при снижении температуры тела. При экспериментальном гипобиозе снижается активность NAD \cdot H-генерирующих энзимов цикла Кребса митохондрий печени. Изменение

активности энзимов и содержания цитохромов внутренней мембраны митохондрий печени свидетельствует о снижении окислительной активности дыхательной цепи, которая может лимитироваться на терминальном (цитохром *c*-оксидазом) участке, и приводить к снижению (в среднем на 49%) H^+ -АТФазной активности митохондрий. Для миокарда крыс при гипобии выявлено повышение (в среднем на 65%) сукцинат-КоQ-оксидоредуктазной активности, что обуславливает поддержку функциональной активности дыхательной цепи, учитывая приближенную к контролю величину цитохром *c*-оксидазной и H^+ -АТФазной активности митохондрий. Структурные перестройки внутренней мембраны митохондрий печени и миокарда в условиях эксперимента сопровождаются повышением гидрофобности в окружении триптофанилов и внутримолекулярными конформационными перестройками протеиновых молекул.

Ключевые слова: экспериментальный гипобий, печень, миокард, митохондрии, мембраны, комплексы дыхательной цепи, цитохромы, флуоресценция.

ACTIVITY OF NAD·H-GENERATING ENZYMES AND CYTOCHROME CONTENT IN MITOCHONDRIA FROM RAT LIVER AND MYOCARDIUM UNDER ARTIFICIAL HYPOBIOSIS

S. D. Melnychuk, S. V. Khyzhnyak, V. S. Morozova, V. M. Voitsitsky

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine, Kyiv;
e-mail: director@quality.ua

The modification particularities of the structural and functional state of the inner mitochondrial membrane of the rat liver and myocardium were observed in conditions of artificial hypobiosis, which was created using hypoxic and hypercapnic gas medium with a body temperature reduction. Under the artificial hypobiosis the activity of NAD·H-generating enzymes of the Krebs cycle of the liver mitochondria decreases. The established changes of the enzymes activity and cytochromes content of the inner mitochondrial membrane indicate the decrease of the oxidative activity of a respiratory chain, that can be limited on a terminal (cytochrome *c* oxidase) site and leads to the decrease (by 49% at an average) of the H^+ -ATPase activity of the liver mitochondria. Under the artificial hypobiosis the detected increase

of the succinate-CoQ-oxidoreductase activity (by 65% at average) causes the maintaining of the functional activity of a mitochondrial respiratory chain, considering the high (relative to control) cytochrome *c* oxidase and H^+ -ATPase activities of the mitochondria of the rats' myocardium. The structural changes of the inner mitochondrial membrane of the liver and myocardium in experimental conditions are accompanied by the increase of hydrophobicity of tryptophan residues microenvironment and the intramolecular modifications of protein molecules.

Key words: artificial hypobiosis, liver, myocardium, mitochondria, membranes, respiratory chain complexes, cytochromes, fluorescence.

1. Тимофеев Н. Н. Гипобийоз и криобийоз. Настоящее, прошлое и будущее. — М.: Информ-Знание, 2005. — 256 с.
2. Игнатъев Д. А., Воробьев В. В., Сухова Г. С. и др. // Нейрохимия. — 1998. — 15, № 3. — С. 240–263.
3. Мельничук С. Д., Мельничук Д. О. Гіпобіоз тварин (молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини). — К.: Видавничий центр НАУ, 2007. — 220 с.
4. Калабухов Н. И. Спячка млекопитающих. — М.: Наука, 1985. — 210 с.
5. Brown G. C. // Biochem. J. — 1992. — 284. — P. 1–13.
6. Скулачев В. П., Богачев А. В., Каспаринский Ф. О. Мембранная энергетика. — М.: И-во Московского ун-та, 2010. — 368 с.
7. Практикум по биохимии / Под ред. Н. В. Северина, Л. Н. Соловьевой. — М.: Из-во МГУ, 1989. — 509 с.
8. Lowry O. H., Rosenbouch N. J., Fair A. L. et al. // J. Biol. Chem. — 1951. — 193, N 1. — P. 265–275.
9. Мохова Е. Н., Жигачева И. В. / Митохондрии. Аккумуляция энергии и регуляция ферментативных процессов. — М.: Наука, 1977. — С. 138–146.
10. Методы биохимических исследований / Под ред. М. И. Прохоровой. — Л.: Изд-во Ленинград. ун-та, 1982. — 234 с.
11. Hardy L., Clark J., Darley-Usmar V. et al. // Biochem. J. — 1991. — 274, N 1. — P. 133–137.
12. Tyler D. D., Nathanailides C. // Basic and Applied Myology. — 1995. — 5, N 1. — P. 99–102.
13. Krause F., Reifschneider N. H., Goto S. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2005. — 329. — P. 583–590.

14. *Zhirnov V., Khyzhnyak S., Voitsitsky V.* // Int. J. Rad. Biol. – 2010. – **86**, N 6. – P. 499–506.
15. *Wallace D. C.* // Annu. Rev. Genet. – 2005. – **39**. – P. 359–407.
16. *Добрецов Г. Е.* Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов. – М.: Наука, 1989. – 277 с.
17. *Горбенко Г. П., Дюбко Т. С., Крупин В. Д.* // Укр. биохим. журн. – 1998. – **70**, № 3. – С. 109–113.
18. *Мельничук С. Д., Морозова В. С., Хижняк С. В., Войціцький В. М.* // Біологія тварин. – 2012. – **14**, № 1–2. – С. 155–161.
19. *Шабалина И. Г., Колпаков А. Р., Соловьев В. Н. и др.* // Биохимия. – 1995. – **60**, № 3. – С. 440–449.
20. *Мельничук С. Д., Морозова В. С., Хижняк С. В., Войціцький В. М.* //Доповіді НАН України. – 2013. – № 4. – С. 142–148.
21. *Тимофеев Н. Н.* Актуальные проблемы гипобиоза и биоэнергетики / Сб. Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – Л.: Наука, 1986. – С. 127 – 136.

Отримано 04.02.2013