

УДК 57.043:576.311.347:577.334

## ОЦІНКА АКТИВНОСТІ ДИХАЛЬНОГО ЛАНЦЮГА МІТОХОНДРІЙ ГЕПАТОЦИТІВ ТА КАРДІОМІОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ МЕТОДОМ СПІНОВОГО ЗОНДУ

С. Д. Мельничук<sup>1</sup>, С. В. Хижняк<sup>1</sup>, О. А. Нardді<sup>2</sup>, Я. О. Черкашина<sup>2</sup>, В. С. Морозова<sup>1</sup>,  
С. В. Рєпіна<sup>2</sup>, В. М. Войцицький<sup>1</sup>  
khs2014@ukr.net

<sup>1</sup>Національний університет біоресурсів і природокористування України,  
Київ 03041, вул. Героїв Оборони, 15

<sup>2</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України,  
Харків 61015, вул. Переяславська, 23

*В статті подано результати дослідження окисно-відновлювальної активності дихального ланцюга мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів щурів методом електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) спінового зонда (за використання ТЕМПОН). Стан штучного гіпобіозу у тварин (вплив гіпотермії, гіперкапнії та гіпоксії) створювали за методикою Бахметьєва-Джайя-Анжуса. Тварин декапітували у стані штучного гіпобіозу (ректальна температура 16 °С), через 2 та 24 год після припинення дії чинників гіпобіозу (ректальна температура, як і в контролі, 37 °С). У якості параметру відновлення спінових зондів використовували відносні зміни амплітуди (I) середньопольової компоненти спектру ЕПР спінового зонда в залежності від часу. Величину константи швидкості відновлення спінового зонду в препаратах внутрішньої мембрани мітохондрій обчислювали за тангенсом кута нахилу в координатах (lgI, t).*

*Встановлено, що відновлення спінового зонду (за величиною константи швидкості) при взаємодії з дихальним ланцюгом мітохондрій гепатоцитів за штучного гіпобіозу подібне щодо відповідного контролю у досліджуваному діапазоні температур (16-37 °С). Водночас, відновлення спінового зонду при взаємодії з дихальним ланцюгом мітохондрій кардіоміоцитів, отриманих за штучного гіпобіозу, зростає за всіх температур щодо відповідного контролю. Можливо за штучного гіпобіозу відбувається активація комплексу II (сукцинат-КоQ-оксидоредуктази) дихального ланцюга мітохондрій кардіоміоцитів, що приводить до зростання редокс-активності його ділянок, на яких відбувається відновлення зонду. Зміни носять короточасний характер, оскільки досліджені показники наближуються до контрольних значень через одну добу після штучного гіпобіозу.*

**Ключові слова:** ГІПОБІОЗ, КАРДІОМІОЦИТИ, ГЕПАТОЦИТИ, МІТОХОНДРІЇ, ДИХАЛЬНИЙ ЛАНЦЮГ, ЕЛЕКТРОННИЙ ПАРАМАГНІТНИЙ РЕЗОНАНС, СПІНОВИЙ ЗОНД

## THE USE OF THE SPIN PROBE REDUCTION FOR THE ESTIMATION OF THE RESPIRATORY CHAIN ACTIVITY OF THE CARDIOMYOCYTES AND HEPATOCYTES MITOCHONDRIA OF THE RATS UNDER THE ARTIFICIAL HYPOBIOSIS

S. D. Melnychuk<sup>1</sup>, S. V. Khyzhnyak<sup>1</sup>, O. A. Nardid<sup>2</sup>, Ya. O. Cherkashyna<sup>2</sup>, V. S. Morozova<sup>1</sup>,  
S. V. Riepina<sup>2</sup>, V. M. Voitsitsky<sup>1</sup>  
khs2014@ukr.net

<sup>1</sup>National university of life and environmental sciences of Ukraine, Kyiv, 03041 Heroyiv  
Oborony str., 15, Ukraine

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of  
Sciences of Ukraine, Kharkiv, 61015, Pereyaslavska str., 23, Ukraine

*The results of researches of the activity of oxidation-reduction reactions of the respiratory chain of the hepatocytes and cardiomyocytes mitochondria in the rats by the spin probe (TEMPON) electron paramagnetic resonance (EPR) was contented. The artificial hypobiosis state (the influence of hypothermia, hypercapnea*

and hypoxia) in the animals was created by Bakhmet'ev-Giay-Anjus model. The animals were decapitated in the state of the artificial hypobiosis (rectal temperature of 16 °C) and in 2 and 24 hours after the termination of the influence of the artificial hypobiosis factors (rectal temperature of 37 °C as a control). As a parameter of spin probe reduction the relative changes of mean field component amplitude of probe EPR spectra depending on time were used. The values of the speed constant of the spin probe reduction in the samples of the inner mitochondrial membrane were calculated by the tangent of the angle in the coordinates ( $\lg I$ ,  $t$ ).

As it was found, the reduction of the spin probe (by the value of the reduction speed constant) in the interaction with the respiratory chain of the hepatocytes under the artificial hypobiosis is similar to the respective control for the investigated temperature range (16-37 °C). However, the reduction of the spin probe in the interaction with mitochondrial respiratory chain of the cardiomyocytes under the artificial hypobiosis increases at all experimental temperatures in comparison to the corresponding control. Perhaps under the artificial hypobiosis the activation of the complex II (succinate-CoQ-oxidoreductase) of the respiratory chain of the cardiomyocyte mitochondria is done leading to the increase of redox activity of its sites which are engaged in a reduction of the probe. The changes are of short duration, because of the investigated parameters are near to the control values in a day after the influence of the factors which cause the artificial hypobiosis state.

**Key words:** HYPOBIOSIS, CARDIOMYOCYTES, HEPATOCYTES, MITOCHONDRIA, RESPIRATORY CHAIN, ELECTRON PARAMAGNETIC RESONANCE, SPIN PROBE

## ОЦЕНКА АКТИВНОСТИ ДЫХАТЕЛЬНОЙ ЦЕПИ МИТОХОНДРИЙ КАРДИОМИОЦИТОВ И ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ МЕТОДОМ СПИНОВОГО ЗОНДА

С. Д. Мельничук<sup>1</sup>, С. В. Хижняк<sup>1</sup>, О. А. Нардид<sup>2</sup>, Я. О. Черкашина<sup>2</sup>, В. С. Морозова<sup>1</sup>,  
С. В. Репина<sup>2</sup>, В. М. Войцицкий<sup>1</sup>  
khs2014@ukr.net

<sup>1</sup>Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины, г. Киев  
03041, ул. Героев Оборона, 15

<sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков 61015,  
ул. Переясловская, 23

В статье представлены результаты исследования окислительно-восстановительной активности дыхательной цепи митохондрий гепатоцитов и кардиомиоцитов крыс методом электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) спиновое зонда (с использованием ТЕМПОН). Состояние искусственного гипобиоза у животных (влияние гипотермии, гиперкапнии и гипоксии) создавали согласно методике Бахметьева-Джайя-Анжуса. Животных декапитировали в состоянии искусственного гипобиоза (ректальная температура 16 °C), через 2 и 24 ч после гипобиоза (ректальная температура, как и в контроле, 37 °C). Восстановления спиновое зонда оценивали по относительным изменениям амплитуды ( $I$ ) среднеполевой компоненты спектра ЭПР спиновое зонда в зависимости от времени. Величину константы скорости восстановления спиновое зонда в препаратах внутренней мембраны митохондрий вычисляли по тангенсу угла наклона в координатах ( $\lg I$ ,  $t$ ).

Установлено, что восстановление спиновое зонда (по величине константы скорости) при взаимодействии с дыхательной цепью гепатоцитов при искусственном гипобиозе подобно соответствующему контролю для исследуемого температурного интервала (16-37 °C). Величина константы скорости восстановления спиновое зонда при взаимодействии с дыхательной цепью митохондрий кардиомиоцитов, полученных при искусственном гипобиозе, увеличивается при всех температурах эксперимента относительно соответствующего контроля. Предполагается активация комплекса II (сукцинат-КоQ-оксидоредуктазы) дыхательной цепи митохондрий кардиомиоцитов при гипобиозе, которая приводит к увеличению редокс-активности его участков, на которых осуществляется восстановление зонда. Изменения носят кратковременный характер, поскольку исследованные показатели приближаются к контрольным значениям через сутки после искусственного гипобиоза.

**Ключевые слова:** ГИПОБИОЗ, КАРДИОМИОЦИТЫ, ГЕПАТОЦИТЫ, МИТОХОНДРИИ, ДЫХАТЕЛЬНАЯ ЦЕПЬ, МЕТОД ЭЛЕКТРОННОГО ПАРАМАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА, СПИНОВЫЙ ЗОНД

Формування штучного гіпобіотичного стану за використання моделі вуглекислотного гіпобіозу веде до пригнічення життєдіяльності, що супроводжується змінами в енергозабезпеченні гомойотермного організму [1, 2]. Біоенергетичний стан клітин обумовлюється функціонуванням мітохондрій, які є основним постачальником енергії [3]. Основна система перетворення енергії в мітохондріях еукаріотних клітин — електронно-транспортний (дихальний) ланцюг, який утворений білковими комплексами внутрішньої мембрани. Це є визначальним чинником для виконання клітиною специфічних функцій, формуванні реакції-відповіді на зовнішній вплив, зокрема дії гіперкапнії, гіпоксії і гіпотермії.

Відомо, що функціонування мембранних структур супроводжується конформаційними перебудовами, які можливі за цілого ряду фізико-хімічних процесів чи змін умов середовища, у тому числі температури [4]. Це стосується і ферментних систем, що приймають участь у переносі електронів та протонів [5, 6]. Білкові компоненти мембран мітохондрій відіграють суттєву роль у термостабільності органел, оскільки латеральна та трансмембранна рухливість мембранних ліпідів залежить від стану мембранних білків, які знижують енергію взаємодії мембранних компонент [7]. Для оцінки життєдіяльності та функціональної активності біологічних систем, у тому числі дихального ланцюга (ДЛ) мітохондрій, широко використовується метод електронного парамагнітного резонансу (ЕПР) спінового зонду [4]. Використаний в роботі водорозчинний спіновий зонд ТЕМППОН піддається відновленню у суспензії мітохондрій різноманітних біологічних об'єктів за рахунок взаємодії із семіхінонами, а саме — КоQ. Інгібіторний аналіз дихання мітохондрій [8] показав, що спіновий зонд здатний приймати електрони на ділянці ДЛ між місцями дії ротенону і антимицину А, тобто в зоні ДЛ між флавопротеїном і цитохромами *b*. Для відновлення іміноксильних радикалів у більшості випадків необхідна присутність як донора електронів, так і донора протонів.

Тому відновлення іміноксильних радикалів у таких клітинних органелах, як мітохондрії, обумовлено каталітичною роллю окисно-відновних систем цих органел, зокрема їх ДЛ [9].

Відповідно до сказаного вище, метою роботи було оцінити методом ЕПР спінового зонда вплив температури на функціональну активність дихального ланцюга мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів щурів за штучного гіпобіозу.

## Матеріали і методи

У дослідах використано білих безпородних щурів-самців (22 особини) масою 180–220 г. Експерименти проводилися відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, 1986).

Стан штучного гіпобіозу (вплив гіпотермії, гіперкапнії та гіпоксії) створювали за методикою Бахметьєва-Джайя-Анжуса, як детально описано в роботах [1, 10]. Тварин поділили на 4 групи: 1-ша — контрольна (інтактні тварини); 2-га — щури, у яких моделювали стан штучного гіпобіозу (ГП); 3-тя та 4-та — тварини через 2 (ГП2) та 24 год (ГП24) після моделювання стану гіпобіозу. Тварин декапітували у стані штучного гіпобіозу (ректальна температура 16.5 °С) та у відповідні терміни після виходу із гіпобіозу (ректальна температура, як і в контролі, 37.0 °С).

Препарати внутрішньої мембрани (ВМ) мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів (у вигляді субмітохондріальних часток) отримували методом диференційного центрифугування згідно з методом [11], а вміст білка визначали згідно з [12].

Метод ЕПР спінового зонду використовували як описано в роботах [9, 13]. У якості іміноксильного радикалу використовували зонд ТЕМПОН (2,2,6,6-тетра-метил-4-оксопиперидин-1-оксил) фірми «Aldrich» (США), який добре розчинний у воді. Кінцева концентрація зонду в зразках становила  $0,8 \cdot 10^{-4}$  М. Спектри ЕПР реєстрували на спектрометрі «Брукер» ER 100D (Німеччина) зі стандартною термоприставкою. Розгортка

магнітного поля становила 100 Гс, постійна часу — 0,5 с, час розгорнення — 100 с. У дослідженнях використовували скляні капіляри з внутрішнім діаметром 500 нм і об'ємом 0,1 см<sup>3</sup>.

Для стандартизації умов експерименту одночасно із сигналом ЕПР зонда реєстрували сигнал стандарту, що представляє собою кристал, решітка якого вміщує іони хрому. У якості параметру відновлення спінових зондів використовували відносні зміни амплітуди (I) середньопольової компоненти спектру ЕПР — спінового зонда залежно від часу.

Оскільки швидкість відновлення зонду залежить від концентрації білка [4], у досліджах використані мембранні суспензії мітохондрій різних груп з однаковою концентрацією білка (однаковою кількістю активних центрів) за надлишку субстрату — сукцинат (у кінцевій концентрації 40 мМ).

Статистичну обробку експериментальних даних проводили загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Розрахунки проводили за допомогою пакетів програм Microsoft Excel v.2007 і Origin 6.0. Вірогідність різниці показників оцінювали за t-критерієм Стюдента.

### Результати й обговорення

Дослідження препаратів ВМ мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів у контролі методом спінових зондів демонструє швидке відновлення іміноксильних радикалів у широкому діапазоні температур (від 16 до 37 °С) (Рис. 1), що відбувається за участі окисно-відновних систем ДЛ [14]. Реакція такого відновлення протікає по експонентній залежності від часу, а логарифм концентрації зонда в координатах ( $\lg I$ , t), де I — відносні зміни амплітуди середньопольового компонента спектру ЕПР зонду (від. од.), а t — час (хв) — це пряма лінія (напівлогарифмічна анаморфоза), тангенс кута нахилу якої дорівнює ефективній константі швидкості реакції ( $K_{\text{ef}}$ ). З урахуванням, що величина максимальної амплітуди центральної компоненти спек-

тра ЕПР зонду за інших рівних умов пропорційна концентрації зонду, це дало можливість обчислити  $K_{\text{ef}}$ . Такі складові процесу відновлення спінового зонду в мембранній суспензії як дифузія нітроксильного радикала і водорозчинних субстратів, а також активність зв'язаних з мембраною ферментних систем ДЛ є температурозалежними. У зв'язку з цим, і процес відновлення спінового зонда залежить від температури. Результати відновлення зонда від часу при деяких температурах з дослідженого діапазону свідчать про сповільнення цього процесу для ВМ мітохондрій кардіоміоцитів та гепатоцитів зі зниженням температури від 37 до 16° С (Рис. 1). Подібна закономірність спостерігається і для препаратів ВМ мітохондрій, які отримано в різний час виходу зі стану гіпобіозу (результати не представлено).

Враховуючи, що відновлення спінового зонду залежить від кількості, активності відновлювальних центрів та їх доступу для радикалу, а дослідження проведено за ідентичних умов досліджень (вміст білка та зонду), можна припустити, що  $K_{\text{ef}}$  відображає структурно-функціональні особливості досліджуваного об'єкта [14]. Тому процес відновлення спінових зондів у певній мірі залежить від структурного стану ВМ мітохондрій.

Константи швидкостей відновлення спінового зонду в досліджених препаратах ВМ мітохондрій, які обчислені за тангенсом кута нахилу відповідних напівлогарифмічних анаморфоз при наведених на Рис. 1 температурах, подано у Табл. 1.

Для ВМ мітохондрій кардіоміоцитів за штучного гіпобіозу  $K_{\text{ef}}$  зростає: при 37° С на 67 %, при 30° С — 45 %, при 25 та 19° С — в 2 рази, а при 16° С — на 54 % щодо відповідного контролю. Для ВМ мітохондрій групи ГП2 величини константи залишаються вищими у середньому 30 % за усіх температур щодо відповідного контролю, а для ВМ мітохондрій групи ГП24 — повертаються до рівня контролю (табл.1). Зростання величини константи може свідчити про покращення доступу



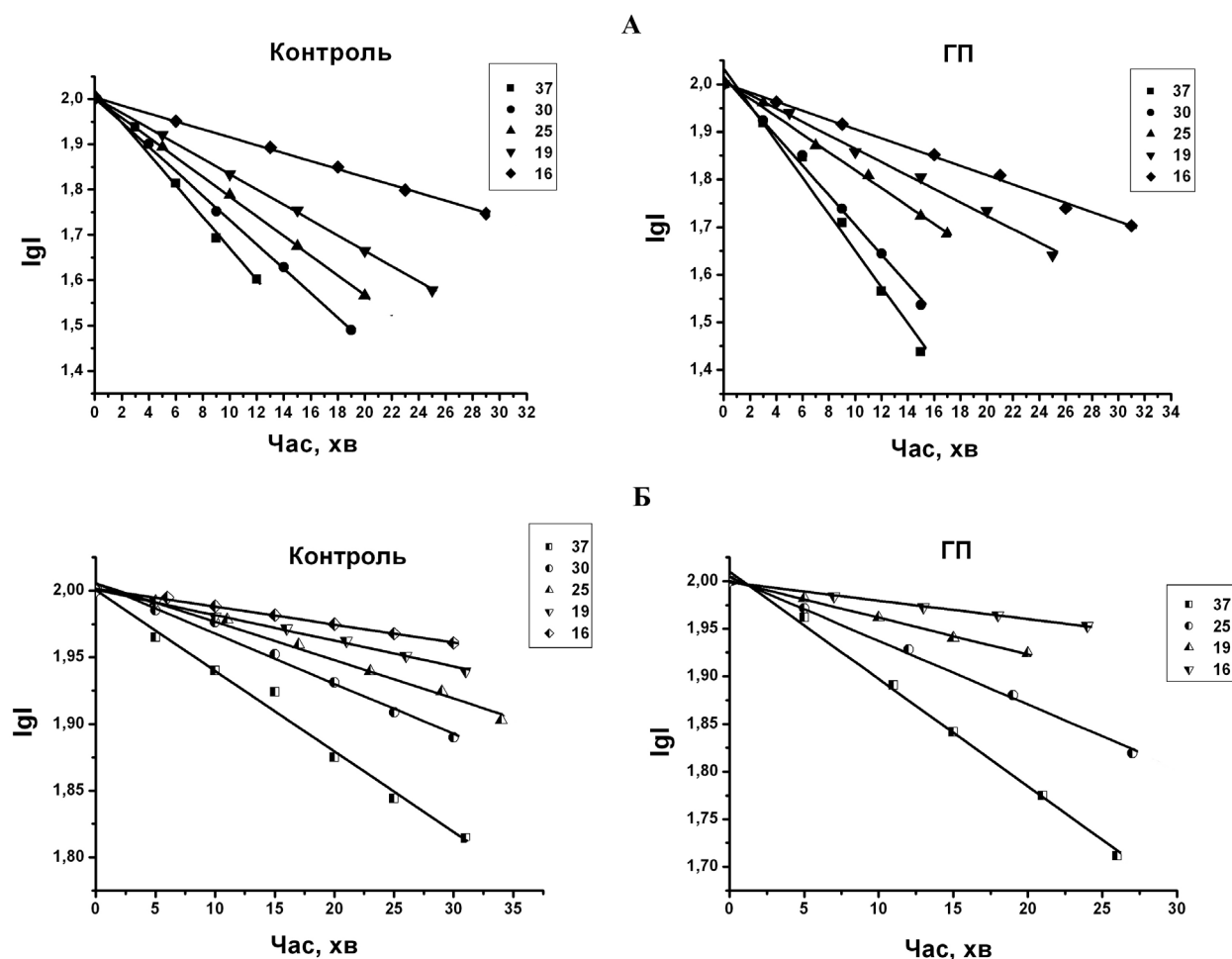


Рис. 1. Ступінь відновлення спінового зонду ТЕМПОН від часу для внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів (А) та кардіоміоцитів (Б) шурів в температурному діапазоні 16–37 °С: ГП — штучний гіпобіоз; по осі ординат І — відносні зміни амплітуди середньопольового компонента спектру ЕПР зонду (від.од.).

Таблиця 1

**Вплив температури на константу швидкості відновлення спінового зонду ( $K_{\text{ef}} \cdot 10^{-2}, \text{хв}^{-1}$ ) для внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів (1) та кардіоміоцитів (2) за штучного гіпобіозу ( $M \pm m, n=5$ )**

Група		37° С	30° С	25° С	19° С	16° С
Контроль	1	3,47±0,24	2,69±0,19	2,17±0,21	1,69±0,13	0,88±0,06
	2	0,61±0,04	0,38±0,02	0,29±0,02	0,19±0,01	0,13±0,01
ГП	1	3,82±0,20	3,11±0,18	1,88±0,13	1,41±0,14	0,97±0,07
	2	1,01±0,11*	—	0,67±0,05*	0,39±0,03*	0,20±0,02*
ГП2	1	3,18±0,22	1,94±0,14*	1,55±0,11*	—	0,58±0,04*
	2	1,01±0,09*	0,55±0,04*	0,38±0,02*	0,29±0,02*	0,18±0,02
ГП24	1	3,27±0,21	2,35±0,19	1,48±0,12*	1,19±0,12*	0,75±0,06*
	2	0,81±0,05*	0,45±0,04	0,33±0,03	0,21±0,02	0,14±0,01

Примітка: ГП — штучний гіпобіоз, ГП2 — через 2,а ГП24 — через 24 год після припинення впливу гіпобіотичних чинників. \* —  $P \leq 0,05$  щодо відповідного контролю.

спінового зонду до ферментів ланцюга переносу електронів, що обумовлено конформаційними перебудовами ВМ, які згідно [15] супроводжуються зростанням внутрішньо-молекулярної динаміки білкових молекул. Ініціаторами структурної перебудови в мембранах мітохондрій можуть виступати білкові молекули, що не виключає зміни структурної організації ліпідного бішару [3].

З урахуванням того, що у якості субстрату для запуску роботи ДЛ використано сукцинат, а з іншого боку, для підтримання функціонування ДЛ мітохондрій кардіоміоцитів в умовах гіпобіозу показана перевага утилізації ФАД– над НАД–залежними субстратами [16], можливо активація комплексу II ДЛ (сукцинат-КоQ-оксидоредуктази) приводить до зростання редокс-активності його ділянок, на яких відбувається відновлення зонду. За час виходу з стану гіпобіозу структурно-функціональна активність ВМ мітохондрій кардіоміоцитів нормалізується, враховуючи наближення до контрольного рівня  $K_{ef}$  (табл. 1).

Для отриманих за штучного гіпобіозу препаратів ВМ мітохондрій гепатоцитів  $K_{ef}$  вірогідно не змінюється при кожній досліджуваній температурі щодо відповідного контролю (табл. 1). У той же час, для отриманих за умов виходу зі стану штучного гіпобіозу препаратів (ГП2 та ГП24)  $K_{ef}$  дещо зменшується щодо відповідного контролю (табл. 1). Це може свідчити про зниження окислювально-відновлювальної активності ДЛ за цих умов. Таким чином, за штучного гіпобіозу не виявлено впливу температури з досліджуваного діапазону (щодо відповідного контролю) на відновлення зонду при взаємодії з ВМ гепатоцитів. Слід враховувати, що температурні компенсації можливі не для всіх систем клітини, а значні зміни швидкості окремих стадій метаболічних процесів, ймовірно, вимагають модифікації структури ферментів та надмолекулярних структур.

## Висновки

1. Показано, що для препаратів внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів, отриманих за гіпобіозу, величина константи швидкості відновлення спінового зонду ТЕМПОН, яка вказує на функціональну активність дихального ланцюга, подібна щодо відповідного контролю в досліджуваному інтервалі температур (16-37 °C).

2. Встановлено, що для препаратів внутрішньої мембрани мітохондрій кардіоміоцитів, отриманих за гіпобіозу, величина швидкості відновлення спінового зонду в досліджуваному інтервалі температур зростає щодо відповідного контролю. Зміни носять короткочасний характер.

3. Функціональна активність дихального ланцюга мітохондрій гепатоцитів за гіпобіозу подібна контролю, а для кардіоміоцитів — зростає, можливо внаслідок структурних перебудов мітохондріальної мембрани, що призводить до покращення доступу спінового зонду до ферментів дихального ланцюга.

## Перспективи подальших досліджень.

З урахуванням того, що спіновий зонд безпосередньо контактує з ділянками дихального ланцюга мітохондрій, приймаючи у них електрон, конформаційні модифікації внутрішньої мітохондріальної мембрани за цих умов можуть впливати на процес відновлення спінових зондів. Надалі буде проведено дослідження структурного стану внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів за штучного гіпобіозу, а саме: внутрішньо-молекулярної динаміки білкових молекул та структурної організації ліпідного бішару.

1. Melnychuk S. D., Melnychuk D. O. The animal hypobiosis state (molecular mechanisms and practical implications for the agriculture and medicine). Kyiv, NULES press, 2007. 220 p. (in Ukrainian).

2. Melnychuk S. D., Vyhovanec V. I. The influence of the artificial hypobiosis on the energy metabolism in the rats. *Ukrainian*

*Biochemical Journal*, 2005, vol. 77, no. 3, pp. 131–135 (in Ukrainian).

3. Skulachev V. P., Bogachev A. V., Kasparinskiy F. O. Membrane power engineering. Moscow, Moscow university press, 2010. 368 p. (in Russian).

4. Nardid O. A. The peculiarities of the temperature dependences of the spin probe recovery in the mitochondria suspension. *Physics of the Alive*, 2008, vol. 16, no. 1, pp. 50–55 (in Ukrainian).

5. Belous A. M., Bondarenko V. A. Structural changes of biological membranes under the cooling. Kiev, Nauk. Dumka, 1982. 256 p. (in Russian).

6. Watson K., Bertoli E., Griffiths D. T. Phase transitions in yeast mitochondrial membranes. The effect of temperature on the energies of activation of the respiratori enzymes of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biochemical Journal*, 1975, vol. 146, no. 2, pp. 401–407.

7. Grinshteyn S. V., Kost O. A. Structural and functional features of membrane proteins. Biological chemistry rewires, 2001, vol. 41, pp. 77–104 (in Russian)

8. Quintanilha A. T., Racker L. Surface localization of sites of reduction of nitroxide spin-labeled molecules in mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1977, 74, (2), pp. 570–574.

9. Koltover V. K. Application of the spin probes method in the study of biological membranes. Biological chemistry rewires,

1974, vol. 15, pp. 232–254 (in Russian).

10. Melnychuk S. D. The main indicators of the blood acid-base status and metabolism in the rats under the amputation in the conditions of the hypobiosis and general anesthesia. *Ukrainian Biochemical Journal*, 2001, vol. 73, no. 6, pp. 101–104 (in Ukrainian).

11. Severin S. E., Soloveva G. A., eds. Workshop on Biochemistry. Moscow, MSU press, 1989. 509 p. (in Russian).

12. Greenberg C. S., Craddock P. R. Rapid single-step membrane protein assay. *Clinical Chemistry*, 1982, vol. 28, no. 7, pp. 1725–1726.

13. Zhdanov R. I. Paramagnetic models of the bioactive compounds. Moscow, Nauka, 1981. 280 p. (in Russian).

14. Nardid O. A. The use of the spin probe reduction in the evaluation of the viability of biological objects. *Physics of the alive*, 2008, vol. 16, no. 1, pp. 44–49 (in Ukrainian).

15. Melnychuk S. D., Khyzhnyak S. V., Morozova V. S., Stepanova L. I., Umans'ka A. O., Voitsitsky V. M. The mitochondria energy function of the cardiomyocytes of the rats under the artificial hypobiosis. *Physiology journal*, 2015, vol. 61, no. 2, 15–22 (in Ukrainian).

16. Melnychuk S. D., Khyzhnyak S. V., Morozova V. S., Voitsitsky V. M. Activity of NAD.H-generating enzymes and cytochrome content in mitochondria from rat liver and myocardium under artificial hypobiosis. *Ukrainian Biochemical Journal*, 2013, vol. 85, no. 4, pp. 75–81 (in Ukrainian).