

ПОКАЗНИКИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРУ ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ШТУЧНОГО ГІПОБІОЗУ

A. O. Umanska¹, D. O. Melnychuk¹, S. D. Melnychuk², L. G. Kalachnyuk¹, V. S. Morozova¹
ann.umanska@ukr.net, serge.melnichuk@gmail.com, kalachnyuk_liliya@nubip.edu.ua

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України,
вул. Героїв Оборони 15, м. Київ, 03041, Україна

²Китайсько-Український науково-дослідний інститут наук про життя,
Вест ген та роад, 135, к. 204, м. Чжуцзі, провінція Чжецзян, КНР

Перспективними й актуальними для медицини були і залишаються дослідження способів загального знеболювання, консервації крові тощо на основі введення організму у стан штучного гіпобіозу, обов'язковими умовами якого є гіпоксія, гіпотермія і гіперкапінія. За зниженого рівня життєдіяльності організму в умовах низької температури навколишнього середовища одна із провідних ролей у функціонуванні біологічних мембран та регуляції метаболізму належить ліпідним сполукам. Тому з метою вивчення адаптації функціональних особливостей організму було визначено вміст триацилгліцеролів, холестеролу, високомолекулярних карбонових кислот та ліпопротеїнів високої (ЛПВЩ), низької (ЛПНЩ) і дуже низької (ЛПДНЩ) щільності у сироватці крові щурів за звичайних умов, штучного гіпобіозу та через 24 год після виходу з нього.

За дії факторів гіперкапінії, гіпоксії і гіпотермії щурів вводили в стан штучного гіпобіозу. Вміст вказаних вище ліпідних сполук визначали за загальноприйнятими методами у сироватці крові щурів трьох груп: контрольної (1^а) і двох дослідних (2^а — стан штучного гіпобіозу і 3^а — через 24 год після виходу зі стану штучного гіпобіозу).

Було встановлено, що за стану гіпобіозу жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові якісно залишався незмінним, тоді як у кількісному їх вмісті спостерігався певний вірогідний перерозподіл, а саме: збільшення міристинової, пальмітинової і стеаринової, зменшення ліолевої, ліоленової і докозагексаєнової кислот.

Вміст холестеролу, ліпопротеїнів низької і високої щільності залишався без суттєвих змін у сироватці крові щурів усіх груп, тоді як вірогідно зростала кількість триацилгліцеролів і ліпопротеїнів дуже низької щільності (на ~30 %) у тварин за стану штучного гіпобіозу та через 24 год після виходу з нього.

Ключові слова: ЛІПІДИ, ЛІПОПРОТЕЇНИ, ГІПОБІОЗ, ГІПЕРКАПІНІЯ, ГІПОКСІЯ, СИРОВАТКА КРОВІ, ЩУРИ

INDICIES OF FATTY ACIDS SPECTRUM OF LIPIDS IN THE BLOOD SERUM OF RATS UNDER CONDITIONS OF ARTIFICIAL HYPOBIOSIS

A. A. Umanska¹, D. A. Melnychuk¹, S. D. Melnychuk², L. H. Kalachniuk¹, V. S. Morozova¹
ann.umanska@ukr.net, serge.melnichuk@gmail.com, kalachnyuk_liliya@nubip.edu.ua

¹National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,
15 Heroiv Oborony str., Kyiv 03041, Ukraine

²China-Ukraine Research Life Science Institute,
135 West gen ta road, office 204, Zhuji city, Zhejiang province, PRC

Methodical approaches to anesthesia, blood conservation, etc. with entering an organism into a state of artificial hibernation, a prerequisite of which is hypoxia, hypercapnia, and hypothermia, were and are promising and relevant for medical research. Under conditions of a reduced level of life of the organism in a low-temperature environment, lipid substances play one of the key roles in the functioning of biological membranes and lipid metabolism regulation. Therefore, to study the adaptation functional characteristics of the organism, it was identified content of triacylglycerols, cholesterol, high-carboxylic acids and high (HDL), low (LDL) and very low (VLDL) density lipoproteins in the blood serum of rats under conditions of normal, artificial hypobiotic state and in 24 hours after leaving hypo-biotic state.

Under the effect of such factors, as hypercapnia, hypoxia, and hypothermia, rats were entered in a state of artificial hibernation. We determined the content of the above lipid substances by conventional methods in rat serum

of three groups: control (1st) and two experimental (2nd — a state of artificial hibernation and 3rd — in 24 hours after leaving hypobiosis).

It was found that the fatty acid spectrum of lipids in the blood serum qualitatively remained without changes during the hypo-biotic state, while the significant redistribution was quantitatively observed, namely increasing myristic, palmitic and stearic acids and reducing linoleic, linolenic and docosahexaenoic acids.

Cholesterol-, LDL- and HDL-content remained without considerable changes in the blood serum of rats of all groups, while it was observed significant increase of a number of triacylglycerols and VLDL (by ~30 %) in animals at the state of artificial hypobiosis and in 24 hours after leaving it.

Keywords: LIPIDS, LIPOPROTEINS, HYPOBIOSIS, HYPERCAPNEA, HYPOXIA, BLOOD SERUM, RATS

ПОКАЗАТЕЛИ ЖИРНОКИСЛОТНОГО СПЕКТРА ЛИПИДОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС ПРИ ИСКУССТВЕННОМ ГИПОБИОЗЕ

А. О. Уманская¹, Д. О. Мельничук¹, С. Д. Мельничук², Л. Г. Калачнюк¹, В. С. Морозова¹
ann.umanska@ukr.net, serge.melnichuk@gmail.com, kalachnyuk_liliya@nubip.edu.ua

¹Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,
ул. Героев Оборона, 15, г. Киев, 03041, Украина

²Китайско-Украинский научно-исследовательский институт наук о жизни,
Вест ген та роад, 135, к. 204, г. Чжуцзи, провинция Чжецзян, КНР

Перспективными и актуальными для медицины были и остаются исследования способов общего обезболивания, консервации крови и т. п. на основе введения организма в состояние искусственного гипобиоза, обязательными условиями которого являются гипоксия, гипотермия и гиперкапния. При пониженном уровне жизнедеятельности организма в условиях низкой температуры окружающей среды одна из ключевых ролей в функционировании биологических мембран и регуляции метаболизма принадлежит липидным соединениям. Поэтому с целью изучения адаптации функциональных особенностей организма было определено содержание триацилглицеролов, холестерина, высокомолекулярных карбоновых кислот и липопротеинов высокой (ЛПВП), низкой (ЛПНП) и очень низкой (ЛПОНП) плотности в сыворотке крови крыс при обычных условиях, искусственного гипобиоза и через 24 ч после выхода из него.

При действии факторов гиперкапнии, гипоксии и гипотермии крыс вводили в состояние искусственного гипобиоза. Определяли содержание указанных выше липидных соединений общепринятыми методами в сыворотке крови крыс трех групп: контрольной (1^я) и двух опытных (2^я — состояние искусственного гипобиоза и 3^я — через 24 ч после выхода из состояния искусственного гипобиоза).

Было установлено, что при состоянии гипобиоза жирнокислотный спектр липидов сыворотки крови оставался неизменным в качественном плане, в то время как в количественном их содержании наблюдалось определенное достоверное перераспределение, а именно увеличение миристиновой, пальмитиновой, стеариновой и уменьшение линолевой, линоленовой, докозагексаеновой кислот.

Содержание холестерина, ЛПНП и ЛПВП оставалось без существенных изменений в сыворотке крови крыс всех групп, в то время как достоверно возрастало количество триацилглицеролов и ЛПОНП (на ~30 %) у животных в состоянии искусственного гипобиоза и через 24 ч после выхода из него.

Ключевые слова: ЛИПИДЫ, ЛИПОПРОТЕИНЫ, ГИПОБИОЗ, ГИПЕРКАПНИЯ, ГИПОКСИЯ, СЫВОРОТКА КРОВИ, КРЫСЫ

Дослідження стану штучного гіпобіозу пов'язане передусім з перспективами його використання у ветеринарній медицині і тваринництві як способу загального знеболювання або консервації клітин крові тощо [1, 2, 4–6, 10, 11, 13, 14, 23, 24]. Обов'язковими умовами створення стану штучного гіпобіозу, поряд з гіпоксією та гіпотермією, є гіперкапнія.

Важливу роль при переході функцій організму ссавців до зниженого рівня життєдіяльності в умовах низької температури доволішнього середовища відіграють саме ліпіди, враховуючи їхнє значення для фізико-хімічних, функціональних властивостей біологічних мембран та регуляції метаболізму [8, 14–19, 20, 21, 22, 24]. Поряд з цим, за адаптації до низьких тем-

ператур суттєва роль належить ліпопротеїнам низької щільності в перенесенні холестеролу у периферичні тканини і регуляції його синтезу в цих тканинах [17, 18, 20, 22].

Для розуміння специфіки дії чинника штучного гіпобіозу на організм тварин та його адаптогенної відповіді було досліджено вміст триацилгліцеролів, холестеролу, високомолекулярних карбонових кислот та ліпопротеїнів високої, низької і дуже низької щільності в сироватці крові щурів за різних умов: норма, гіпобіоз і 24 год після виведення із гіпобіотичного стану.

Матеріали і методи

Експерименти проводилися відповідно до вимог «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються з експериментальною та іншою науковою метою» (Страсбург, Франція, 1985 р.) за загальними етичними принципами експериментів на тваринах, ухваленими I Національним конгресом України з біоетики (2001 р.).

У досліджах використовували білих безпородних щурів-самців масою 180–200 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Тварин було поділено на три групи: контрольна (1^a — інтактні тварини) та дві дослідні (2^a — стан штучного гіпобіозу, 3^a — через 24 год після виходу зі стану штучного гіпобіозу). Кожна група тварин налічувала по 8 щурів.

Стан штучного гіпобіозу створювали згідно з методом Бахметьєва-Джайя-Анжуса [17] за дії факторів гіперкапнії, гіпоксії і гіпотермії. Для введення у стан штучного гіпобіозу тварин поміщали в герметично закриту камеру, об'єм якої становив 3 дм³ за температури навколишнього середовища +3...+4 °С. Протягом перебування тварин у камері за таких умов змінюється як температура, так і склад газового середовища: розвивається гіперкапнія (зростає вміст вуглекислого газу) та гіпоксія (зменшується рівень кисню). Через 3–3,5 год, залежно від індивідуальних особливостей, у тварин спостерігається зниження ректальної температури з 37 °С до 17 °С; зменшення частоти серцевих скорочень з 380 до 80 ударів/хв; тварини повністю втрачають

рухомість, реакцію на больовий подразник, зникає рефлекс на положення, що свідчить про розвиток стану штучного гіпобіозу.

Тварин декапітували у стані штучного гіпобіозу (за t тіла 17 °С) та через 24 год після виходу з гіпобіозу. Сироватку крові щурів отримували загальноприйнятим методом [22].

Екстракцію ліпідів сироватки крові здійснювали за методом Фолча [7]. Ліпопротеїни визначали після їх розділення центрифугуванням [20]. Метилестери жирних кислот (ЖК) аналізували на газовому хроматографі «Trace GC Ultra» (США). Для кількісної оцінки спектру ЖК використовували метод нормування площі піка [9].

Дані представлені у вигляді середнього значення \pm SEM (по 8 щурів у групі). Використовували t -критерій Стьюдента для всіх аналізів і різниці значень із $P \leq 0,05$ розглядали як статистично вірогідні. Всі розрахунки проводили з використанням програмного забезпечення *OriginLab*, *Microsoft Excel* для t -тест аналізу.

Результати й обговорення

Жирні кислоти відіграють важливу роль у процесах обміну речовин, всмоктування з кишечнику низки вітамінів і мінеральних компонентів та акумулювання енергії. Одні жирні кислоти переважно використовуються як субстрат для енергетичного обміну, інші — як джерело утворення фізіологічно активних речовин (простагландинів, простациклінів, тромбоксанів та лейкотрієнів, які є одними з головних попередників у формуванні кровоносної системи) [2, 10]. Поряд з тим ЖК як компоненти ліпідних сполук, які є структурними елементами мембран, одночасно є основними субстратами процесу ліпідної пероксидації. З огляду на це, якісні і кількісні зміни жирнокислотного складу можуть бути певним критерієм для оцінки інтенсивності прооксидантно-антиоксидантної рівноваги у тканинах організму [5]. Наприклад, одна з найголовніших функцій стеаринової кислоти полягає у збереженні енергетичних запасів [20]. Своєю чергою, пальмітинова та олеїнова кислоти беруть участь у побудові біологічних мембран. Присутність великих кількостей олеїнової кислоти в жировому депо забезпечує

стійкість депонованих ліпідів до окиснення за помірної кількості антиоксидантів [14].

Міристинова кислота (МК) відіграє основну роль в утворенні мембран еритроцитів крові. Також разом з пальмітиною кислотою вона стимулює активацію ендотеліальної синтази нітроген оксиду, внаслідок чого відбувається синтез циклічного гуанозинмонофосфату й активація розчинної гуанілат-циклази, що викликає розслаблення гладких м'язів судин. МК стимулює ендотеліальну адгезію клітин через CD36-шлях, у тому числі адгезію тромбоцитів через змішані CD36-рецептори, що спричиняє тромбоутворення в судинах [17].

Жирнокислотний склад ліпідів сироватки крові щурів представлений насиченими та ненасиченими високомолекулярними карбоновими кислотами, найбільший вміст се-

ред яких належить, відповідно, пальмітиновій і стеариновій та олеїновій і лінолевої. Співвідношення насичені/ненасичені жирні кислоти становить 0,45. За стану штучного гіпобіозу спостерігається збільшення вмісту таких жирних кислот, як пальмітинова, стеаринова, міристинова і докозагексаєнова, яка, порівняно з контролем, зростає майже вдвічі (табл. 1).

Вміст лінолевої і ліноленової кислот знижувався у дослідних групах порівняно з контрольною. Через 24 год після зняття дії чинників гіпобіозу співвідношення насичені/ненасичені ЖК зростало до 0,81. З даних літератури відомо, що лінолева кислота може використовуватися в біосинтезі арахідонової кислоти, деяких простагландинів, лейкотрієнів і тромбоксану [3, 18] та ліпідних структурних елементів клітинних мембран [12], тоді як ліноленова,

Таблиця 1

Вміст жирних кислот (ЖК) ліпідів сироватки крові щурів за умов нормального, штучно гіпобіотичного стану та через 24 год після виходу із гіпобіозу (m±SEM, n=8)
The content of fatty acids (FA) of lipids in the blood serum of rats under conditions of normal, artificial hypobiotic state and in 24 hours after leaving the state of hypobiosis (m±SEM, n=8)

Жирна кислота / Fatty acid	1 ^a група 1 st group	2 ^a група 2 nd group	3 ^a група 3 rd group
Масляна / Butyric	3,83±0,15	2,86±0,11*	3,13±0,13
Капронова / Capronic	0,03±0,01	0,04±0,01	0,05±0,01
Каприлова / Caprylic	0,86±0,05	1,86±0,07*	2,06±0,14*
Міристинова / Myristic	0,2 ±0,01	0,35 ±0,02*	1,62 ±0,14*
Пентодеканова / Pentadecanoic	0,15 ±0,01	0,16 ±0,01	0,24 ±0,02*
Пальмітинова / Palmitic	17,08 ±1,26	19,76 ±1,51	25,21 ±1,37*
Гексадекадієнова / Hexadecadienoic	0,31 ±0,02	0,66 ±0,05*	0,76 ±0,04*
Маргарінова / Margaric	0,25 ±0,02	0,28 ±0,02	0,39 ±0,03*
Гептодеценнова / Heptadecenoic	0,06±0,01	0,12±0,01	0,06±0,01
Стеаринова / Stearic	8,11 ±0,53	9,35 ±0,74	11,81 ±0,82 *
Олеїнова / Oleic	13,91 ±1,18	12,53 ±1,15	7,31 ±0,58*
Лінолева / Linoleic	37,63±2,26	29,78±2,19*	20,71±1,76*
Ліноленова / Linolenic	4,57±0,35	2,88±0,17*	0,93±0,05*
Генейкозанова / Heneicosanoic	0,34±0,02	0,27±0,01	0,21±0,02
Арахідова / Arachidic	0,14±0,01	0,19±0,01*	0,26±0,02*
Бегенова / Behenic	0,16±0,008	0,08±0,005 *	0,02±0,001*
Арахідонова / Arachidonic	8,10±0,52	12,16±0,94*	16,12±0,96*
Ерукова / Erucic	0,17±0,01	0,26±0,01*	0,49±0,02*
Тетракозатетраєнова / Tetracosatetraenoic	0,18±0,01	0,31±0,02*	0,34±0,01 *
Докозагексаєнова / Docosahexaenoic	3,84±0,21	6,42±0,38*	8,41±0,57*
НЖК / SFA	31,04±1,62	35,05±1,58	44,79±2,74*
ННЖК / UFA	68,96±3,55	64,95±4,74	55,21±3,85*
НЖК/ННЖК / SFA/UFA	0,45	0,54	0,82

Примітка: результати представлено як масову частку жирної кислоти у % від суми жирних кислот. НЖК — насичені жирні кислоти; ННЖК — ненасичені жирні кислоти; * — P≤0,05 стосовно контролю.

Note: results are presented as % the mass fraction of the total fatty acids. SFA — saturated fatty acids; UFA — unsaturated fatty acids; * — P≤0.05 relative to control.

Вміст ліпідів та ліпопротеїнів сироватки крові щурів за умов нормального, штучно гіпобіотичного стану та через 24 год після виходу із гіпобіозу (m±SEM, n=8)
The content of lipids and lipoproteins in the blood serum of rats under conditions of normal, artificial hypobiotic state and in 24 hours after leaving the state of hypobiosis (m±SEM, n=8)

Показники / Parameters	1 ^a група 1 st group	2 ^a група 2 nd group	3 ^a група 3 rd group
Триацилгліцероли, ммоль/л / Triacylglycerols, mmol / L	0,67±0,05	0,89±0,06*	0,85±0,06*
Холестерол, ммоль/л / Cholesterol, mmol / L	1,48±0,13	1,60±0,19	1,51±0,19
ЛПДНЩ, ммоль/л / VLDL, mmol / L	0,30 ±0,03	0,40±0,04*	0,39±0,03*
ЛПНЩ, ммоль/л / LDL, mmol / L	0,43 ±0,03	0,41±0,04	0,35±0,03
ЛПВЩ, ммоль/л HDL, mmol / L	0,75 ±0,06	0,79±0,07	0,77±0,06

Примітка: ЛПДНЩ — ліпопротеїни дуже низької щільності; ЛПНЩ — ліпопротеїни низької щільності; ЛПВЩ — ліпопротеїни високої щільності; * — P≤0,05 стосовно контролю.

Note: VLDL — very low density lipoprotein; LDL — low density lipoprotein; HDL — high density lipoprotein; * — P≤0.05 relative to control.

можливо, бере участь у регуляції кількісного вмісту ліпідів, тромбоутворенні [3]. Тому зменшення вмісту цих ненасичених кислот у стані штучного гіпобіозу пов'язане насамперед з їхньою теплоізоляційною функцією, а саме підтриманням постійної температури тіла.

Не менш важливими для життєдіяльності організму є триацилгліцероли і холестерол. Триацилгліцероли відіграють декілька важливих функцій в організмі: резервно-енергетичну, теплозберігаючу та механічну (захист тіла та внутрішніх органів), оскільки входять до складу підшкірної та брижової жирових тканин [13, 16]. Згідно з даними (табл. 2), вміст триацилгліцеролів вірогідно зростав саме за стану штучного гіпобіозу, тоді як показники холестеролу залишалися без змін. На нашу думку, таке зростання вмісту триацилгліцеролів може відбуватися за рахунок активації гліцерофосфатного, β-моногліцеридного або дигідроксиацетонфосфатного шляхів синтезу триацилгліцеролів.

Ми спостерігали різний характер змін вмісту ліпопротеїнів за стану норми, штучного гіпобіозу та через 24 год після виходу з нього. Кількість ліпопротеїнів низької і високої щільності залишалася майже незмінною в різних груп щурів за час проведення дослідів, спостерігали тенденцію до невеликого зниження ЛПНЩ у тварин 2ⁱ і 3ⁱ груп і часткового зростання ЛПВЩ за гіпобіозу та повернення до рівня норми та через 24 год після виходу з нього. Вміст ЛПДНЩ у си-

роватці щурів дослідних груп в середньому зростав майже на 30 %.

Висновки

За штучного гіпобіозу жирнокислотний спектр ліпідів сироватки крові не відрізнявся від контролю, однак спостерігався перерозподіл у вмісті окремих жирних кислот. Виявлено вірогідне зростання вмісту насичених (міристинової, пальмітинової, стеаринової) та зниження основних (лінолева та ліноленова) і мінорної (докозагексаєнової) ненасичених ЖК.

Вміст холестеролу, ЛПНЩ і ЛПВЩ залишався без суттєвих змін у сироватці крові щурів усіх груп, водночас спостерігали вірогідне кількісне зростання триацилгліцеролів і ЛПДНЩ (~30 %) у тварин за стану штучного гіпобіозу та через 24 год після виходу з нього.

Такий характер змін у вмісті ЖК, триацилгліцеролів, холестеролу і ліпопротеїнів може бути свідченням особливої регуляторної ролі ліпідних сполук за стану штучного гіпобіозу.

Перспективи подальших досліджень.

Детальне дослідження кількісного вмісту ліпідних сполук не тільки в крові, а й у тканинах тварин необхідне для розуміння процесу адаптації ссавців до низьких температур, а також пошуку способів підтримки довготривалого та безпечного гіпобіозу.

1. Afonin G. B., Kuyun L. A. *Lipids, free radicals the reply immune*. National Medical University, 2000, 285 p. (in Ukrainian)

2. Ashmarin I. P., Sosulina L. Y., Sukhov G. S., Kuzmin V. S. ADP-ribose, and ribose-cADP endogenous regulators of cellular ionic balance cardiotropic effect of ADP-ribose. *Advances of Physiological Sciences*, 2006, no. 1, pp. 3–17.
3. Banerjee P. S., Ma J., Hart G. W. Diabetes-associated dysregulation of O-GlcNAcylation in rat cardiac mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, vol. 112, no. 19, pp. 6050–6055. DOI: 10.1073/pnas.1424017112.
4. Baraboi V. A. *Bioantioxidants*. Kyiv, Book Plus, 2006, 481 p. (in Ukrainian)
5. Brand M. D., Couture P. L. Evolution of energy metabolism. Proton permeability of the inner membrane of liver membrane of liver mitochondria is greater in a mammal than in a reptile. *Ukrainian Biochemical Journal*, 1991, vol. 275, pp. 81–86.
6. Dolgov V. *Laboratory diagnosis of metabolic disorders lipids*. Moscow, Medicine, 2001, 218 p. (in Russian)
7. Folch J., Lees M., Sloane Stanley C. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *Ukrainian Biochemical Journal*, 1957, 226 (1), pp. 497–511.
8. Guglielmino K., Jackson K., Harris T. R., Vu V., Dong H., Dutrow G., Evans J. E., Graham J., Cummings B. P., Havel P. J., Chiamvimonvat N., Despa S., Hammock B. D., Despa F. Pharmacological inhibition of soluble epoxide hydrolase provides cardioprotection in hyperglycemic rats. *American Journal of Physiology Heart and Circulatory Physiology*, 2012 vol. 303, no. 7, pp. H853–H862. DOI: 10.1152/ajpheart.00154.2012.
9. ISO, HOST 31663-2012 Plant oils and animal fats. Determination of mass fraction of methyl ether of fatty acids by Gas chromatography. Moscow, 2012.
10. Jastroch M., Giroud S., Barrett P., Geiser F., Heldmaier G., Herwig A. Seasonal Control of Mammalian Energy Balance: Recent Advances in the Understanding of Daily Torpor and Hibernation. *Journal of Neuroendocrinology*, 2016, vol. 28, no. 11. DOI: 10.1111/jne.12437.
11. Kamyshnikov V. S. *Handbook of clinical and biochemical studies, and laboratory diagnosis*. Moscow, MEDpress-Inform, 2004, pp. 524–526. (in Russian)
12. Ketsa O. V., Shmarakov I. O., Marchenko M. M. Lipid peroxidation in cardiac mitochondrial fraction of rats exposed to different supplementation with polyunsaturated fatty acids. *Biomedical Chemistry*, 2016, vol. 62, no. 1, pp. 50–55. DOI: 10.18097/PBMC20166201050.
13. Klimov A. N., Nikulcheva N. G. *Exchange of lipids and lipoproteins and its disorders*. 1999, 512 p.
14. Melnychuk D. O., Melnychuk S. D., Arnautova O. V. Influence of carbon dioxide on the environment preservation of red blood cells in stored blood of animals. *Scientific Bulletin of NAU*, 2004, no. 75, pp. 163–165.
15. Melnychuk S. D. Key figures acid-base status blood and metabolic hibernation and when general anesthesia for the amputation. *Ukrainian Biochemical Journal*, 2001, vol. 73 (6), pp. 80–83.
16. Melnychuk S. D. Main indicators of acid-base status of blood and metabolic processes of dormancy and general anesthesia for the amputation of a limb. *Ukrainian Biochemical Journal*, 2001, vol. 73, no. 6, pp. 80–83.
17. Melnychuk S. D., Melnychuk D. O. *Animal dormancy (molecular mechanisms and practical for Agriculture and Medicine)*. A monograph. Kyiv, Publishing Center NAU, 2007, p. 220 (in Ukrainian)
18. Melnychuk S. D., Rogovskiy S. P., Melnychuk D. O. Features of the acid-base balance and Nitrogen metabolism in rats under conditions of artificial hibernation. *Ukrainian Biochemical Journal*, 1995, vol. 67 (4), pp. 67–75.
19. Nazarenko G. I., Kiskun A. A. *Clinical evaluation of laboratory results*. Moscow, Medicine, 2002, pp. 535–544. (in Russian)
20. Nelson D. L., Cox M. M. *Lehninger Principles of Biochemistry*. 7th ed.. New York, W. H. Freeman, 2017, 1328 p.
21. Ostapchenko L. I., Mikhailik I. V. *Biological membranes: methods of investigation of structure and function*. A manual. Kyiv, Kyiv University, 2006, 211 p.
22. Sklyarov O. J. *The biochemical composition of body fluids and cell-diagnostic value*. Kyiv, Health, 2004, 188 p. (in Ukrainian)
23. Starostin V. K., Degteva S. A. *Cholinesterase: methods of analysis and diagnostic value*. Novosibirsk, Vector Best, 2008, 35 p. (in Russian)
24. Storey K. B., Storey J. M. Molecular Physiology of Freeze Tolerance in Vertebrates. *Physiological Reviews*, 2017, vol. 97, no. 2, pp. 623–665. DOI: 10.1152/physrev.00016.2016.