

УДК 57.043:576.311.347:577.334

С.В. ХИЖНЯК, С.В. СИСОЛЯТИН, С.В. МІДИК, В.М. ВОЙЦЬКИЙ

МОДИФІКАЦІЯ СТРУКТУРНОГО СТАНУ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ОРГАНІВ ТВАРИН ЗА ЕКЗОГЕННОГО ВПЛИВУ

***Анотація.** Представлені результати експериментальних досліджень структурних модифікацій внутрішньоклітинних мембран печінки і міокарда щурів за дії гіпокси-гіперкапічного середовища поряд зі зниженням температури тіла (стан штучного гіпобіозу). Виявлені конформаційні перебудови білкових молекул і зниження структурної впорядкованості аннулярних ліпідів, що свідчить про зміни білок-ліпідних взаємодій в мембранах, а також зростання в клітинних мембранах печінки та міокарда вмісту загальних ліпідів, холестеролу і фосфоліпідів спрямовано на адаптацію до впливу чинників гіпоксії, гіперкапнії та гіпотермії.*

***Ключові слова:** клітинні мембрани, структурні перебудови, ліпіди, печінка, міокард, гіпоксія, гіперкапнія.*

Вступ

Однією з центральних проблем біології є дослідження адаптації організму до стрес-факторів довкілля завдяки діяльності комплексу біохімічних механізмів, що беруть участь у розвитку компенсаторних реакцій організму. Стан пригнічення життєдіяльності організмів, який настає за дії екзогенних чинників, поділяють на природний та штучний гіпометаболічні стани, механізми формування якого знаходиться в полі зору нового напрямку біологічної науки – гіпобіології [1].

Стан природної пониженої життєдіяльності організму тварин характерний для багатьох представників живого, природними чинниками розвитку та підтримання якого виступають різкі зміни температури навколишнього середовища та добового світлового режиму, дефіцит води, корму, зміни концентрації вуглекислого газу і кисню в атмосфері тощо [2]. Адаптаційні пристосування до дії екзогенних чинників середовища закладені в анатомо-фізіологічній, молекулярно-генетичній і біохімічній особливостях будови організму [3].

Сьогодні проблема створення повноцінних аналогів природної сплячки – штучного гіпобіозу – вирішена простими і абсолютно безпечними способами. Зокрема формування у тварин гіпобіотичного стану в умовах гіпотермії, гіперкапнії та гіпоксії [4]. Введення теплокровних організмів у стан глибокого гіпобіозу не вимагає будь-яких додаткових функціональних перебудов організму. За короткочасної дії гіпокси-гіперкапнії при зниженні температури організм використовує існуючі метаболічні резерви, які закладені в ньому в процесі тривалої еволюції [5]. Аналіз цих резервів – задача непроста, оскільки потребує використання різнобічних методичних та діагностичних підходів. Проте не викликає сумніву важливість досліджень у цьому напрямку, оскільки вони сприяють виявленню механізмів життєстійкості організму та можливих шляхів її збільшення.

У пристосуванні живих систем до екстремальних умов довкілля, зокрема дії іонізуючої радіації та важких металів [6, 7], важливу роль відіграє

структурно-функціональна модифікація клітинних мембран [8]. Ліпідний склад біологічних мембран забезпечує збереження ультраструктури, вибіркочу проникність, регуляцію ферментативної активності, стабільність мембрани, транспорт іонів та молекул. Порушення регуляції активності мембранозв'язаних ферментів та сигнальних білків, можуть бути обумовлені модифікацією характеру молекулярних взаємодій білкових молекул та аннулярних ліпідів, а зміни структурної впорядкованості ліпідної компоненти впливають на організацію функціонально-активної конформації білкових молекул в мембрані [9].

У зв'язку з цим метою даної роботи є дослідження структурного стану клітинних мембран печінки та міокарда щурів за штучно створеного гіпобіозу (вплив гіпоксії та гіперкапнії в умовах гіпотермії).

Матеріали і методи дослідження

Дослідження були проведені на безпородних щурах-самцях масою тіла 170–180 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію. При експерименті дотримувались усі біоетичні норми, згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних і наукових цілей» (Страсбург, 1986 р.) і «Загальними етичними принципами експериментів на тваринах», ухваленими Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Стан штучного гіпобіозу створювали за методикою Бахметьєва-Джайя-Анжуса, яка детально описана в роботах [10]. Тварин поміщали в герметично закриту камеру, об'єм якої складав 3 дм³, а температура в ній становить 3–4°C. Протягом подальших 3,5 год у камері змінюється склад газового середовища: зростає вміст вуглекислого газу та зменшується рівень кисню – у тварин розвивається гіперкапнія та гіпоксія, а температура тіла знижується до 16.5°C. Тварин при досягненні стану штучного гіпобіозу, а також тварин контрольної групи піддавали декапітації.

Отримання препаратів внутрішньоклітинних мембран (післямітохондріальна фракція) печінки та міокарда проводили із застосуванням методу диференційного центрифугування [11]. Концентрацію білка вимірювали методом Грінберга [12]. Структурно-динамічний стан ліпідної та білкової компонент клітинних мембран оцінювали, як детально описано в роботі [13]. Мікров'язкість ліпідної компоненти мембран визначали за ступенем ексимеризації пірену N ($N = Fe/F_m$, де Fe – інтенсивність флуоресценції ексимерів пірену, а F_m – мономерів) для загальної ліпідної фази при $\lambda_{36} = 335$ нм (N_{335}) і аннулярних ліпідів при $\lambda_{36} = 280$ нм (N_{280}) [14]. Конформаційний стан білкових молекул у мембранах оцінювали за ефективністю гасіння акриламідом триптофаної флуоресценції згідно з [15]. Інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків білків мембран реєстрували при 338 нм, довжина хвилі збудження – 296 нм. Флуоресцентні дослідження проводили на спектрофлуориметрі Shimadzu-RF510 (Японія).

Екстракцію ліпідів проводили за методом Фолча [16] з модифікаціями. Кількість загальних ліпідів (ЗЛ) у тканинах визначали ваговим методом після відгонки екстрагуючої суміші [17]. Кількісне визначення загальних фосфоліпідів (ФЛ) проводили за використання гідроксаматного методу, а холестеролу – колориметричного методу за використання феруму хлориду [18].

Результати експериментальних досліджень обробляли загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Зміни показників вважали вірогідними при $P < 0,05$.

Результати досліджень

Структурний стан мембранних білків оцінювали при визначенні власної флуоресценції мембран, яка в значній мірі обумовлена наявністю білкових триптофанів. Емісійний спектр триптофанової флуоресценції мембранних препаратів печінки та міокарда подібний з $\lambda_{\text{макс}} = 340$ нм (рис. 1).

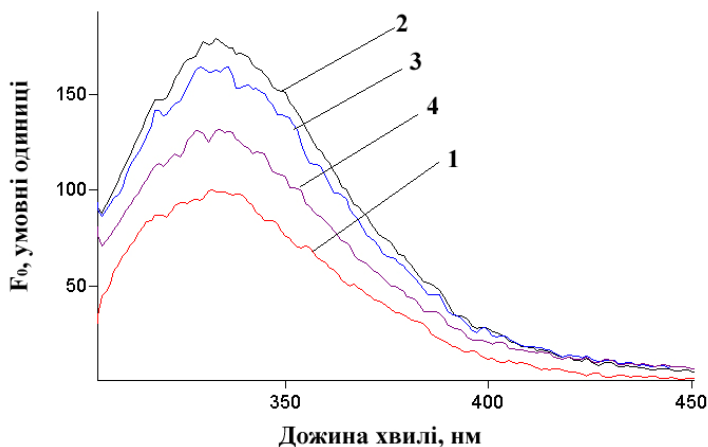


Рис. 1 – Емісійний спектр флуоресценції білків мембранних препаратів печінки (1,4) та міокарда (2,3) у контролі (3,4) та за гіпобіозу (1,2). По осі ординат (F , ум.од.), по осі абсцис (довжина хвилі, нм) ($\lambda_{36.} = 295$ нм). Типовий експеримент

Відомо, що триптофан – найбільш інтенсивний природний флуорофор в білках, флуоресценція якого дуже чутлива до полярності оточуючого середовища. Максимум флуоресценції білків відображає середню доступність їх триптофанових залишків до водної фази [14, 15]. В наших дослідженнях величина спектрального (стоксівського) зсуву (при $\lambda_{36.} = 295$ нм, $\lambda_{\text{фл. макс.}} = 340$ нм) відповідає поверхневій білковій локалізації триптофанових залишків, що знаходяться на межі розподілу ліпідна фаза – водна фаза та помірно полярному оточенню флуорофорів. Згідно з емпіричною моделлю Бурштейна [19] – це поверхневі залишки в оточенні зв'язаних, малорухомих диполів води.

Визначення власної флуоресценції мембран показало, що за штучного гіпобіозу її інтенсивність для міокарда збільшується на 12%, а печінки – знижується на 20% (табл. 1). Це може бути обумовлено структурними перебудовами в мембрані, оскільки інші спектральні характеристики триптофанової флуоресценції (положення максимуму спектру та ширина спектру флуоресценції) залишаються незмінними. Крім того, виявлені зміни флуоресценції триптофанових залишків білкових молекул в мембранах можуть бути обумовлені як конформаційними перебудовами білкової молекули, так і внутрішньо-молекулярною динамікою білків та характером

взаємодії їх триптофанових залишків з сусідніми групами, оскільки флуоресценція триптофанілів чутлива до рухомості сусідніх груп [14, 15].

Таблиця 1 – Показники структурно-динамічного стану клітинних мембран печінки та міокарда щурів за штучного гіпобіозу ($M \pm m$, $n = 6$)

Умови досліджу		Печінка		Міокард	
		Контроль	Гіпобіоз	Контроль	Гіпобіоз
Інтенсивність триптофанової флуоресценції F_0 , відн.од.		$1,00 \pm 0,02$	$0,80 \pm 0,04^*$	$1,00 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,06^*$
Частка доступних гасінню триптофанових залишків, f_a		$0,64 \pm 0,04$	$0,65 \pm 0,03$	$0,76 \pm 0,03$	$0,78 \pm 0,04$
Константа Штерна-Фольмера (K_{Sv}), M^{-1}		$7,31 \pm 0,38$	$5,14 \pm 0,16^*$	$10,51 \pm 0,04$	$8,79 \pm 0,04^*$
Ступінь ексімеризації пірену відн. од.	N_{280}	$0,150 \pm 0,04$	$0,134 \pm 0,05$	$0,161 \pm 0,03$	$0,194 \pm 0,03^*$
	N_{335}	$0,234 \pm 0,04$	$0,212 \pm 0,05$	$0,265 \pm 0,03$	$0,280 \pm 0,03$

Примітка: K_{Sv} – константа Штерна-Фольмера; F_0 – інтенсивність флуоресценції за відсутності гасника, $\lambda_{36} = 295$ нм, $\lambda_{fl} = 340$ нм, f_a – частка флуоресценції, яка зазнає гасіння. N – ступінь ексімеризації пірену в області аннулярних ліпідів ($\lambda_{36} = 280$ нм) та загальної ліпідної фази ($\lambda_{36} = 335$ нм).

* - $P < 0,05$ щодо контролю.

Для оцінки конформаційних змін мембранних білків досліджували гасіння триптофанової флуоресценції акриламідом – типовим нейтральним дифузійним гасником (акцептором електрону), який широко використовується у подібних експериментах [13]. При цьому враховували гетерогенність досліджуваних об'єктів (клітинні мембрани) по кількості триптофанових залишків різних типів: тобто наявність тих, які піддаються гасінню (наприклад, знаходяться на поверхні молекули білка), і тих, які не піддаються (наприклад, розміщені всередині білкової глобули), згідно з [15]. Саме у випадку наявності в досліджуваному препараті флуорофорних груп з різною здатністю до гасіння може спостерігатись відхилення від прямолінійної залежності кривих гасіння в координатах Штерна-Фольмера. В такому випадку для розрахунку параметрів гасіння власної білкової флуоресценції зручно використовувати модифіковане рівняння Штерна-Фольмера, яке враховує частку триптофанових залишків, які піддаються гасінню [15].

Додавання акриламіду до мембранних препаратів призводить до гасіння їх триптофанової флуоресценції (це спостерігається для усіх препаратів). При цьому не відбувається зсуву λ_{max} флуоресценції триптофанілів. Відсутність зсуву λ_{max} для мембран може пояснюватись наявністю ефективного переносу енергії між триптофанілами в гетерогенній їх популяції, що призводить до однакового гасіння їх флуоресценції. Показано, що зсув піку емісії відбувається лише за жорстких денатуруючих умов [20].

Аналіз даних по гасінню в модифікованих координатах Штерна-Фольмера дозволяє визначити частку флуоресценції триптофанових залишків (f_a), яка доступна для гасіння, та ефективну константу гасіння (K_{SV}), зміни якої відображають структурну динаміку білкових молекул. Причому ефективність гасіння триптофанової флуоресценції передусім залежить від швидкості дифузії гасника всередину білкової матриці, що обумовлено флуктуацією, тобто конформаційною динамікою. Встановлено (табл. 1), що за гіпобіозу частка доступних для гасіння триптофанових залишків білкових молекул досліджуваних мембран не змінюється. Встановлено зниження величини K_{SV} для препаратів печінки на 30%, а міокарда – на 16%, що свідчить про зменшення рухливості білкових молекул, тобто підвищення їх внутрішньомолекулярної жорсткості, яке може забезпечувати їх функціональну активність. За виходу із гіпобіозу величини досліджуваних показників для мембранних препаратів повертаються до рівня контролю.

На наявність конформаційних змін мембранних білків міокарда вказує збільшення інтенсивності триптофанової флуоресценції та зниження внутрішньомолекулярної рухливості білкових молекул, а для мембранних білків печінки – зниження інтенсивності триптофанової флуоресценції та внутрішньомолекулярної рухливості білкових молекул. Таким чином, структурні перебудови білкових молекул мембран супроводжуються внутрішньомолекулярними конформаційними перебудовами. Відомо, що основу структурної та функціональної цілісності біологічної мембрани складають білок-ліпідні взаємодії, які залежать як від організації білкових молекул в мембрані, так і структурної впорядкованості (мікрів'язкості) ліпідної компоненти мембран [9].

Мікрів'язкість ліпідної компоненти мембран досліджували з використанням гідрофобного зонду пірену, молекули якого локалізуються в ділянці жирнокислотних ланцюгів фосфоліпідів. При фіксованій температурі та концентрації зонду ступінь ексимеризації зонду залежить від мікрів'язкості його оточення і може виступати її характеристикою. З підвищенням мікрів'язкості дифузія молекул зонду уповільнюється, тому ймовірність зіткнення двох молекул зменшується, відповідно зменшується і ступінь його ексимеризації [14].

Визначення мікрів'язкості двох ліпідних фаз у одному зразку проводили при $\lambda_{36} = 335$ нм (в'язкість загальної ліпідної фази) та використовуючи метод індуктивно-резонансного переносу енергії (ІРПЕ) з триптофанових залишків мембранних білків на пірен при $\lambda_{36} = 280$ нм (в'язкість аннулярних ліпідів – знаходяться на відстані ближче 3 нм від білкової глобули). Всі дані розраховували, виходячи з первинних спектрів флуоресценції. На існування явища переносу енергії з мембранних білків на пірен вказують наступні дані. При внесенні пірену до проби, що містить мембранні препарати, інтенсивність триптофанової флуоресценції при $\lambda_{фл} = 340$ зменшується поряд із збільшенням флуоресценції при $\lambda_{фл} = 390$ нм та $\lambda_{фл} = 470$ нм (рис. 2) відповідно мономерної та ексимерної форм пірену. Тобто, в препаратах відбувається міграція енергії з триптофанових залишків білків на пірен.

Результати з визначення величини ступеня ексимеризації пірену у мембранних препаратах представлено в табл. 1. Слід зауважити, що ступінь ексимеризації пірену в різних ліпідних пулах як в контролі, так і за гіпобіозу значно не відрізняється. Цей факт вказує на відносну однорідність фізичних

властивостей (мікрів'язкості) ліпідної фази клітинних мембран. Встановлено (табл. 1), що для мембранних препаратів печінки за гіпобіозу ступінь ексимеризації пірену в загальній ліпідній фазі та для аннулярних ліпідів достовірно не змінюється. Для мембранних препаратів міокарда за умов гіпобіозу ступінь ексимеризації пірену для аннулярних ліпідів (N_{280}) зростає на 20,5%, а в загальній ліпідній фазі – не змінюється. За виходу із гіпобіозу величина ступеня ексимеризації пірену у досліджуваних мембранних препаратах повертається до рівня контролю. Отримані результати вказують на зменшення мікрів'язкості аннулярних ліпідів мембран міокарда за гіпобіозу, тобто зменшується структурна впорядкованість ліпідної компоненти мембран.

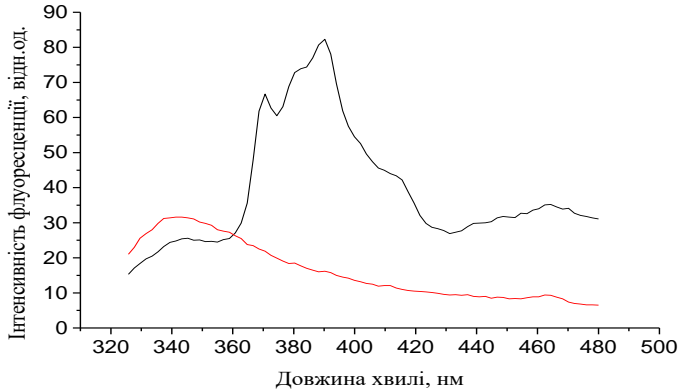


Рис. 2. – Спектри флуоресценції мембранних препаратів у відсутності (1) або присутності (2) 5 мкМ пірену, $\lambda_{36} = 280$ нм

Виявлене зниження структурної впорядкованості ліпідної компоненти мембран міокарда за штучного гіпобіозу свідчить про модифікацію білок-ліпідних взаємодій в мембрані. Крім того, зміна мікрів'язкості ліпідної фази мембран може бути пов'язана з порушенням гідрофобних взаємодій між молекулами ліпідів та α -спіральними ділянками білків [14].

Модифікація молекулярних взаємодій білкових молекул та аннулярних ліпідів може обумовлювати зміни в активності мембранозв'язаних ферментів та сигнальних білків, тобто зміни структурної впорядкованості ліпідної компоненти впливають на організацію функціонально-активної конформації білкових молекул в мембрані. В'язкість ліпідів, як відомо, є інтегральною величиною і залежить від складу фосfolіпідів, вмісту холестеролу, який впорядковує структуру мембрани, кількості ненасичених жирних кислот та ступеня їх ненасиченості тощо.

Результати дослідження вмісту загальних ліпідів (ЗЛ), холестеролу (ХС) та загальних фосfolіпідів (ФЛ) клітинних мембран печінки та міокарда щурів за штучного гіпобіозу та виходу із цього стану представлено в табл. 2. Для мембранних препаратів міокарда показано, що вміст ЗЛ зростає у групах ГП та ГП24 на 20,4% та 60,1% відповідно у порівнянні з контролем. Вміст загальних ФЛ також збільшується у групах ГП і ГП24 на 23,5% та 57,0% відповідно у порівнянні з контролем. Вміст ХЛ збільшується у групах ГП і ГП24 на 27,3% та 66,2% у порівнянні з контролем. Тобто, через 24 год після припинення дії чинників штучного гіпобіозу вміст ЗЛ, ФЛ і ХС продовжує зростати (табл. 2).

Для мембранних препаратів печінки показано, що вміст ЗЛ зростає на 27,2% у стані штучного гіпобіозу (група ГП), а через 24 год після виходу з цього стану (група ГП24) залишається вищим в середньому на 16,6% у порівнянні з контролем. Вміст загальних ФЛ в групі ГП зростає в середньому на 14,8%, а групі ГП24 не спостерігається істотних змін у їх вмісті у порівнянні з контролем. Вміст ХС в групі ГП зростає на 19,4%, а у групі ГП24 – повертається до рівня контролю (табл. 2).

Таблиця 2 – Вміст ліпідів у мембранних препаратах міокарда (1) та печінки (2) щурів за штучного гіпобіозу ($M \pm m$, $n = 8$)

Ліпіди		Контроль	ГП	ГП24
Загальні ліпіди, мкг/мг білка	1	298,6 ± 21,0	359,4 ± 30,2	479,8 ± 34,4*
	2	229,8 ± 15,0	292,4 ± 23,2*	267,9 ± 17,1*
Холестерол, мкг/мг білка	1	7,7 ± 0,6	9,8 ± 0,5*	12,8 ± 1,1*
	2	10,8 ± 0,5	12,9 ± 0,3*	11,8 ± 1,1
Фосфоліпіди, мкг/мг білка	1	231,2 ± 18,1	285,5 ± 21,0*	362,8 ± 31,1*
	2	211,2 ± 14,6	242,5 ± 13,0*	206,2 ± 20,1
ХС/ФЛ	1	0,065	0,060	0,074
	2	0,099	0,103	0,108

Примітка: ГП – штучний гіпобіоз; ГП24 – через 24 год після припинення дії чинників штучного гіпобіозу; ХС/ФЛ – молярне співвідношення.

* – $P \leq 0,05$ щодо контролю.

Холестерол (ХС) є одним із компонентів біологічних мембран, який входить до їх складу переважно у вільному стані та взаємодіє з молекулами білків і ФЛ. Чинники, які порушують «упаковку» ліпідів в біологічній мембрані, прискорюють, а чинники, що підтримують структурованість ліпідів (наприклад холестерол), гальмують ПОЛ [21]. Величина молярного співвідношення ХС/ФЛ є важливою характеристикою мембран, яка в певній мірі пов'язана із їх структурно-функціональною активністю.

Співвідношення ХС/ФЛ у мембранних препаратах міокарда для групи ГП не відрізняється від контрольних значень, а для групи ГП24 збільшується в середньому на 14,0% у порівнянні з контролем. Величина співвідношення (ХС/ФЛ) у мембранних препаратах печінки за штучного гіпобіозу істотно не змінюється, а для групи ГП24 збільшується в середньому на 9,0% у порівнянні з контролем (табл. 2). Отримані результати вказують на особливості у перерозподілі вмісту ЗЛ, ХЛ, ФЛ для внутрішньоклітинних мембран печінки та міокарда за штучного гіпобіозу і виходу із цього стану. Введення тварин в стан штучного гіпобіозу призводить до зростання вмісту ЗЛ та основних ліпідів мембран (ФЛ та ХС). Через добу після припинення дії чинників штучного гіпобіозу вміст досліджуваних ліпідів для мембранних препаратів печінки повертається до контрольних значень, а для мембранних препаратів міокарда продовжує зростати, що вказує на регуляторну роль ліпідів для підтримки функціональної активності серця за екстремальних умов. При цьому для міокарда зростає і співвідношення ХС/ФЛ внутрішньоклітинних мембран, що характеризує їх структурно-функціональний стан.

Детальне дослідження структурно-функціонального стану внутрішньої мембрани мітохондрій [22, 23], які є основними постачальниками акумульованої в АТФ енергії в еукаріотичних клітинах, що важливо для виконання клітиною специфічних функцій, у тому числі формування реакції-відповіді на зовнішній вплив [24], показало зміни структури та фізичних властивостей внутрішньої мембрани мітохондрій гепатоцитів та кардіоміоцитів, які полягають у модифікації поверхневих ділянок, структурної впорядкованості ліпідної компоненти, гідрофобних білок-ліпідних взаємодій, конформації мембранних білкових молекул. Враховуючи, що функціонування мембранних систем, в тому числі інтегральних мембранних білків, залежить від їх динамічних властивостей та ліпідного оточення, виявлені за гіпобіозу зміни структурно-динамічної впорядкованості переважно мітохондріальної мембрани можуть призводити до змін функціонування транспортних систем, процесів енергетичного обміну тощо. Це може виступати складовою клітинного механізму дії гіпокси-гіперкапнічного середовища.

Таким чином, стан штучного гіпобіозу при температурі тіла 16–17°C за умов гіпоксії-гіперкапнії викликає адаптивні зміни структурного стану та хімічного складу внутрішньоклітинних мембран печінки та міокарда, що забезпечує виживання ссавців за екстремальних умов. Отримані дані вказують на їх структурні перебудови, що полягають у зменшенні впорядкованості ліпідної компоненти, а саме прибілкового ліпідного бішару, та конформаційній модифікації білкових макромолекул. Показана роль ліпідів в механізмах адаптації клітинних мембран до гіпобіотичних умов. Дослідження механізмів штучних гіпометаболічних станів є важливим для адаптаційної біології.

Висновки

1. Введення щурів в стан штучного гіпобіозу за впливу гіпокси-гіперкапнічного середовища при зниженні температури тіла супроводжується структурними модифікаціями внутрішньоклітинних мембран печінки та міокарда, які супроводжуються внутрішньомолекулярними конформаційними перебудовами білкових молекул та зниженням структурної впорядкованості ліпідної компоненти (аннулярних ліпідів), що свідчить про порушення білок-ліпідних взаємодій в мембрані.
2. Встановлено, що за дії чинників штучного гіпобіозу для внутрішньоклітинних мембран міокарда та печінки спостерігається зростання вмісту загальних ліпідів, холестеролу і фосfolіпідів, кількість яких в міокарді продовжує зростати через 24 год після виходу тварин із стану гіпобіозу.
3. Отримані результати свідчать про структурно-функціональну роль ліпідів клітинних мембран печінки та міокарда за штучного гіпобіозу, яка спрямована на адаптацію до екстремальних умов.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Угаров Г.С. Теоретические основы гипобиологии / Г.С. Угаров // *Фундаментальные исследования*. – 2013. – №10. – С. 1280–1283.
2. Тимофеев Н.Н. Гипобиоз и криобиоз. Настоящее, прошлое и будущее / Н.Н. Тимофеев. – М.: Информ-Знание, 2005. – 256 с.
3. Withers, P.C. Metabolic depression: a historical perspective / P.C. Withers, C.E. Cooper // *Progress in Molecular and Subcellular Biology*. – 2009. – Vol. 49. – P. 1–23.

4. Мельничук С.Д. Гіпобіоз тварин (молекулярні механізми та практичне значення для сільського господарства і медицини) / С.Д. Мельничук, Д.О. Мельничук. – К.: Видавничий центр НАУ, 2007. – 220 с.
5. Лукьянова Л.Д. Современные проблемы адаптации к гипоксии. Сигнальные механизмы и их роль в системной регуляции / Л.Д. Лукьянова // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2011. – № 1. – С. 3–19.
6. Хижняк С.В. Структурний стан мембран мітохондрій ентероцитів тонкої кишки та гепатоцитів за дії екзогенних чинників / С.В. Хижняк, В.А. Грищенко, Л.І. Степанова, А.О. Прохорова, В.М. Войціцький // Вісник ХНУ. Серія біологія. 2011. – Т. 40. – Вип. 2. – С. 196–200.
7. Хижняк С.В. Клітинні механізми токсичності кадмію / С.В. Хижняк. – К.: Видавництво „LAT& K”, 2010. – 213 с.
8. Brown V.S. Biological membranes / V.S. Brown. – Manchester: «Oxford Road», 1999. – 45 p.
9. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функции / Р. Геннис. – М.: Мир, 1997. – 624 с.
10. Мельничук С.Д. Енергетична функція мітохондрій кардіомиоцитів щурів за штучного гіпобіозу / С.Д. Мельничук, С.В. Хижняк, В.С. Морозова, Л.І. Степанова, А.О. Уманська, В.М. Войціцький // Фізіологія тварин. – 2015. – Т. 61, № 2. – С. 15–22.
11. Северина С. Е. Практикум по биохимии: Учебное пособие / Под. ред. С. Е. Северина, Г. А. Соловьевой. – М.: Изд-во МГУ, 1989. – 509 с.
12. Greenberg C.S. Rapid single-step membrane protein assay / C.S. Greenberg, P.R. Craddock // Clin. Chem. – 1982. – V. 28, № 7. – P. 1725–1726.
13. Zhirnov V. The effects of ultra-low dose -radiation on the physical properties of human erythrocyte membranes / V. Zhirnov, S. Khyzhnyak, V. Voitsitsky // Int. J. Rad. Biol. – 2010. – V. 86, № 6. – P. 499–506.
14. Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов / Г.Е. Добрецов. – М.: Наука, 1989. – 277 с.
15. Лактович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии / Дж. Лактович. – М.: Мир, 1986. – 236 с.
16. Folch J.A. Simple Method for the Isolation and Purification of Total Lipides from Animal Tissues / J. A. Folch, M. Leez, G.H.S. Stanley // J. Biol. Chem. – 1957. – Vol. 226, № 2. – P. 497–501.
17. Kates M. Techniques of lipidology: Analysis, isolation and Identification of Lipids / M. Kates // American Elsevier Pub. Co., Inc., New York, N.Y., 1986. – P. 163–164.
18. Петровский В.И. Экстракция, разделение и количественное определение липидных фракций сыворотки крови / В.И. Петровский, Т.И. Регеранд, Е.И. Лизенко // Лаборат. дело. – 1986, № 6. – С. 339–343.
19. Бурштейн Э.А. Собственная люминесценция белка: Природа и применение / Э.А. Бурштейн // Итоги науки и техники. Сер. Биофизика. – Т. 7. – М.: ВИНТИ, 1977. – 190 с.
20. Tyson P.A. Assembly of tryptophan residues in Na,K-ATP-ase / P.A. Tyson, M. Steinberg // J. Biol. Chem. – 1987. – Vol. 262, № 10. – P. 4644–4648.
21. Коломийцева И.К. Липиды ядерных фракций нейронов и глии неокортекса при искусственном гипобіозе крыс / И.К. Коломийцева, Л.Н. Маркевич, Д.А. Игнатъев, О.В. Быкова // Биохимия. – 2010. – Т. 75. № 9. – С. 1265–1272.
22. Хижняк С.В. Вплив гіпоксигіперкапнії на структурний стан клітинних мембран гепатоцитів щурів / С.В. Хижняк, Л.І. Степанова, С.В. Мідик, С.Д. Мельничук // Scientific Journal “Science Rise” № 10/6 (15). – 2015. – С. 27–31.
23. Хижняк С.В. Енергетична функція мітохондрій за гіпобіозу / С.В. Хижняк, В.М. Войціцький, С.Д. Мельничук // Монографія. – К.: ЦП «Компринт», 2016. – 190 с.
24. Скулачев В.П. Мембранная энергетика / В.П. Скулачев, А.В. Богачев, Ф.О. Каспаринский // М.: И-во Московского ун-та, 2010. – 368 с.

Стаття надійшла до редакції 24.07.2017