

УДК 619:615:577.1:616-003.269:636

СТРУКТУРНО-ДИНАМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ АПІКАЛЬНОЇ ТА МІТОХОНДРІАЛЬНОЇ МЕМБРАН ЕНТЕРОЦИТІВ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЕНТЕРОПАТОЛОГІЇ ТА СПОСІБ ЇЇ КОРЕКЦІЇ

Д. О. МЕЛЬНИЧУК¹, С. В. ХИЖНЯК², В. А. ГРИЩЕНКО¹,
О. О. КИСІЛЬ², В. М. ВОЙЦИЦЬКИЙ²

¹Національний університет біоресурсів і природокористування України, Київ;

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Україна;
e-mail: vmv@biocc.univ.kiev.ua

Досліджували структурно-динамічний стан апікальної та мітохондріальної мембран ентероцитів тонкої кишки щурів при експериментальній ентеропатології та його модифікацію засобом БАД FLP-MD, розробленого на основі фосфоліпідів молока. Проведені дослідження свідчать, що при ентеропатології виникають різнобічні деструктивні зміни в мембранах: модифікація структурної упорядкованості ліпідної фази, конформаційні зміни протеїнових молекул, відмінності в топографії мембран, порушення гідروفобних протеїн-ліпідних взаємодій. Виявлено також реакцію апікальної та мітохондріальної мембран на корегувальну дію БАД FLP-MD, що обумовлено особливостями їхніх структурно-функціональних властивостей.

Ключові слова: ентеропатологія, біологічно активна добавка FLP-MD, апікальна та мітохондріальна мембрани, структура мембран, флуоресцентні зонди.

Мембрани, інтегруючи діяльність окремих компартментів клітини, забезпечують її взаємодію з навколишнім середовищем [1]. Через це ушкодження структурної цілісності мембран, у тому числі і за патології різного походження, призводять до порушення клітинного гомеостазу [2].

Згідно з рідинно-мозаїчною моделлю, структуру біомембран розглядають з погляду динамічних властивостей та взаємозв'язку із функціями [3]. Структурний стан їх характеризується гетерогенністю, динамікою молекул протеїнів та ліпідів і взаємодію між останніми [3]. Функціонування мембранних протеїнів залежить від ліпідного оточення, якому притаманні специфічні фізико-хімічні властивості. Тому оцінка структурно-динамічного стану біомембран має важливе значення для розуміння молекулярних основ порушення мембранних процесів і шляхів їхньої корекції.

Перебіг того чи іншого захворювання та тривалість періоду реабілітації організму визначається, насамперед, інтенсивністю відновлювальних процесів в ушкоджених мембранних структурах і функціонуванням клітин загалом. Саме тому останнім часом значна роль у терапевтичних схемах відводиться препаратам репаративної дії. Так, зокрема, при тяжких захворюваннях шлунково-кишкового тракту, пе-

чінки, нервової та серцево-судинної систем активно використовують препарати репаративної дії, розроблені на основі фосфоліпідів рослинного походження та морепродуктів [4]. Проте за хімічним складом зазначені фосфоліпіди істотно відрізняються від таких у клітинних мембранах ссавців, оскільки містять переважно есенційні жирні кислоти. Це спонукало науковців до створення засобу на основі фосфоліпідів тваринного походження з маслянки (побічного продукту перероблення молока на масло) – біологічно активної добавки (БАД) FLP-MD [5]. Він є природним для ссавців і, отже, може бути ефективним за відновлювальною здатністю структурно-функціональних порушень у клітинних мембранах.

Метою роботи було дослідити структурно-динамічні властивості апікальної та мітохондріальної мембран ентероцитів тонкої кишки при експериментальній ентеропатології у щурів та на тлі використання засобу БАД FLP-MD.

Матеріали і методи

Дослідження проводили на лабораторних безпорідних щурах-самцях із масою тіла 180–200 г, яких розділили на 3 групи: 1 – інтактні тварини (контроль); 2 – у щурів експериментально моделювали ентеропатологію з

виразково-ерозійним процесом згідно з рекомендаціями у статтях [7, 8]; 3 – щурам з експериментальною ентеропатологією упродовж 30 днів перорально вводили БАД FLP-MD (2,7 мг на 1 тварину).

Для відтворення експериментальної ентеропатології щурам груп 2 та 3 14 діб щоденно одноразово робили ін'єкцію диклофенаку (12,5 мг/кг маси тіла, що становить в середньому 3 мг на 1 тварину [6]). Тварин групи 2 залишали без лікування, тобто для можливої самореабілітації, а щурам групи 3 вводили БАД FLP-MD. Після закінчення експерименту щурів декапітували під ефірним наркозом.

У щурів з експериментальною модельованою ентеропатологією, яка характеризується виразково-ерозійним процесом, вже з третьої доби після ін'єкції диклофенаку [7, 8] спостерігаються характерні клінічні ознаки захворювання: зниження апетиту й маси тіла, блідість слизових оболонок шлунка та кишечника, розм'якшення калових мас. При патолого-анатомічному розтині виявлено геморагічне запалення слизової оболонки шлунково-кишкового тракту, наявність ерозій та виразок, венозну гіперемію, зернисту і жирову дистрофію печінки.

До складу БАД FLP-MD входять фосfolіпіди (близько 80% загальних ліпідів), серед них (у %): фосфатидилхолін (25,5–30,0), фосфатидилетаноламін (32,0–35,0), фосфатидилсерин (9,1–10,9), сфінгомелін (18,0–18,5) і фосфатидилінозитол (7,7–8,6), а також комплекс ненасичених жирних кислот (до 70% загальної вмісту з домінуванням лінолевої, лінолевої і олеїнової) та жиророзчинні вітаміни – α -токоферол і ретинолацетат [5].

Досліди проводили на апікальній мембрані (АМ) – складової частини плазматичної мембрани ентероцитів – та внутрішній мітохондріальній мембрані (ММ). Виділення препаратів АМ і мітохондрій з гомогенату слизової оболонки порожнього відділу тонкої кишки здійснювали шляхом диференційного центрифугування [9, 10]. Препарати ММ отримували як описано у статтях [11, 12]. Ступінь очищення обох препаратів контролювали методом електронної мікроскопії та за активністю маркерних ензимів. Вміст протеїну визначали методом О. Н. Lowry et al. [13].

Для тестування структурного стану гідрофобних ділянок мембран використовували флуоресцентні зонди – 8-анілінонафтил-1-сульфонат (АНС) і пірен, а також метод реєстрації індуктивно-резонансного перенесення енергії (ІРПЕ) за таких умов: у парі триптофан–пірен гасіння флуоресценції триптофа-

ну піреном (концентрація – 5–20 мкмоль/л) вимірювали при $\lambda_{\text{фл.}} = 340$ нм та $\lambda_{\text{зб.}} = 280$ нм; у парі пірен–АНС гасіння флуоресценції пірену (концентрація 1 мкмоль/л) АНС (концентрація – 10–100 мкмоль/л) визначали при $\lambda_{\text{фл.}} = 323$ та $\lambda_{\text{зб.}} = 392$ нм [14, 15].

Мікрров'язкість мембран – величину обернену ступеню ексимеризації пірену ($N = F_e/F_m$) – оцінювали для двох ліпідних фаз: загальної ($\lambda_{\text{зб.}} = 335$ нм, N_{335}) та анулярних ліпідів ($\lambda_{\text{зб.}} = 280$ нм, N_{280}) [16]. Інтенсивність флуоресценції пірену реєстрували при 390 нм (F_m – мономери пірену) і при 470 нм (F_e – ексимери пірену).

Інтенсивність триптофанової флуоресценції мембранних препаратів визначали при $\lambda_{\text{фл.}} = 338$ нм та $\lambda_{\text{зб.}} = 296$ нм. Як гасник триптофанової флуоресценції застосовували 1 М розчин акриламід, а для обчислення параметрів гасіння флуоресценції триптофанілів – модифіковане рівняння Штерна–Фольмера [17, 18]. Усі флуоресцентні дослідження здійснювали на спектрофлуориметрі Shimadzu-RF510 (Японія) в 1-сантиметрових кварцевих кюветах при 25 °С.

Експериментальні дані обробляли загальноприйнятими методами статистики [19] з використанням критерію Стьюдента.

Результати та обговорення

Для вивчення структурної організації біологічних мембран широко застосовують спектрофлуориметричні методи, зокрема флуоресцентні зонди [20–23].

Одержані дані свідчать, що у щурів з експериментальною ентеропатологією інтенсивність флуоресценції триптофанових залишків протеїнових молекул АМ та ММ знижується порівняно з контролем в середньому на 10 та 11% відповідно (табл. 1). Емісійний спектр триптофанової флуоресценції мембранних протеїнів (за положенням максимуму та його шириною) подібний до всіх досліджених препаратів з $\lambda_{\text{max}} = 340$ нм (дані не наведено).

Отже, виявлені нами зміни, ймовірно, пов'язані з окислювальною деструкцією протеїнових триптофанілів, оскільки при ентеропатології інтенсифікуються окисно-відновні процеси [24]. Серед інших вірогідних причин істотне значення має конформаційна перебудова протеїнових молекул, переміщення їх до гідрофільної зони та особливості взаємодії триптофанових залишків із сусідніми групами молекул [17, 25].

Для оцінки конформаційного стану у мембранних протеїнах нами було застосовано

Таблиця 1. Інтенсивність триптофанової флуоресценції мембранних препаратів та параметри її гасіння акриламідом ($M \pm t, n = 6$)

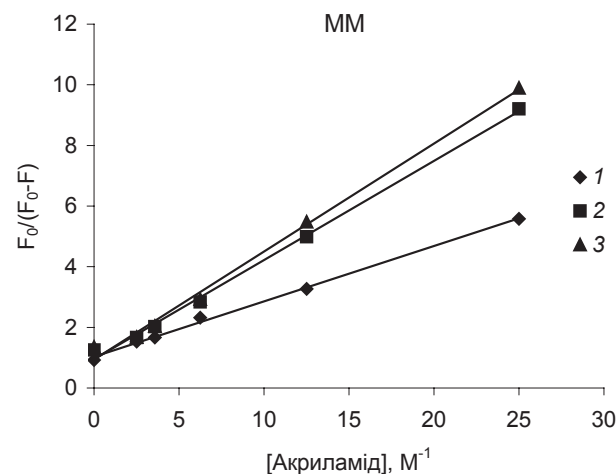
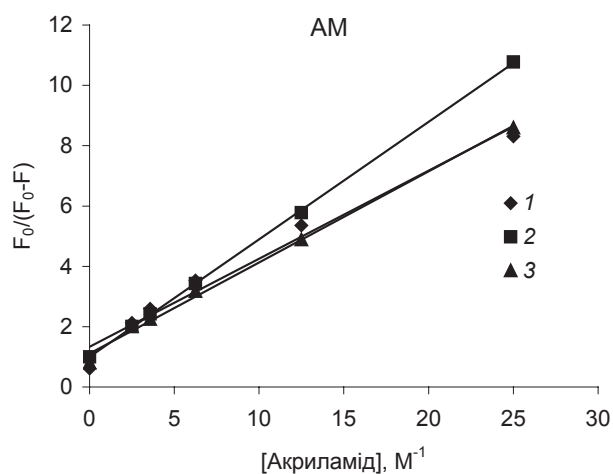
Групи щурів	Інтенсивність флуоресценції, відн. од.	Частка триптофанів β , доступних для гасіння флуоресценції	Константа Штерна–Фольмера (K_{SV}), M^{-1}
<i>Апікальна мембрана</i>			
1	1,0	$0,61 \pm 0,05$	$6,05 \pm 0,65$
2	$0,90 \pm 0,02^*$	$0,90 \pm 0,04^*$	$2,58 \pm 0,61^*$
3	$0,98 \pm 0,03$	$0,58 \pm 0,04^{**}$	$7,93 \pm 1,10^{**}$
<i>Мітохондріальна мембрана</i>			
1	1,0	$0,82 \pm 0,05$	$6,06 \pm 0,75$
2	$0,89 \pm 0,03^*$	$0,96 \pm 0,04^*$	$2,38 \pm 0,21^*$
3	$0,85 \pm 0,03^*$	$0,97 \pm 0,04^*$	$2,01 \pm 0,12^*$

Примітка. Тут і в табл. 2, 3 та на рис.: 1 – інтактні тварини (контроль), 2 – щури з модельованою ентеропатологією не отримували БАД, 3 – щурам з модельованою ентеропатологією перорально вводили БАД; * дані порівняно з контролем вірогідні, $P \leq 0,05$; ** дані порівняно зі щурами групи 2 вірогідні, $P \leq 0,05$.

метод гасіння триптофанової флуоресценції зовнішнім нейтральним гасником акриламідом, який здатен проникати до гідрофобних зон мембрани. Дані щодо гасіння триптофанової флуоресценції препаратів АМ та ММ наведено в модифікованих координатах Штерна–Фольмера (рисунок) згідно з рекомендаціями М. Eftink та С. Ghiron [26], що дозволяє визначити частку флуоресценції β , доступну для гасіння, та ефективну константу гасіння K_{SV} , зміни якої відображують внутрішньомолекулярну динаміку протеїнових молекул. Слід зважати також на гетерогенність клітинних мембран за кількістю триптофанових залиш-

ків різних типів. Застосоване нами модифіковане рівняння Штерна–Фольмера передбачає наявність двох типів флуорофорів: повністю доступних або недоступних гасінню. Тому відмінності значень β від одиниці (контрольні препарати) свідчать лише про наявність певної кількості триптофанів, які недоступні для гасіння акриламідом [18].

Результати досліджень щодо гасіння триптофанової флуоресценції акриламідом наведено в табл. 1. У щурів з експериментальною патологією доступність до гасіння порівняно з контролем зростає як у препаратах АМ (на 48%), так і ММ (на 17%) – табл. 1. Ок-



Модифікований графік Штерна–Фольмера для гасіння акриламідом триптофанової флуоресценції препаратів апікальної (АМ) та мітохондріальної (ММ) мембран. Наведено типову залежність

рім того, змінюється також характер гасіння флуоресценції акриламідом: ефективна константа гасіння K_{SV} у препаратах обох мембран зменшується порівняно з контролем на 57 та 40% відповідно (табл. 1). Ефективність гасіння триптофанової флуоресценції акриламідом залежить, передусім, від швидкості дифузії гасника всередину протеїнової матриці, що обумовлено флуктуацією, тобто конформаційною динамікою [17, 18]. Таким чином, зниження ефективності гасіння триптофанової флуоресценції, вірогідно, пов'язане зі зменшенням внутрішньомолекулярної рухливості протеїнових молекул або протеїнової матриці в цілому.

Одержані дані свідчать, що при ентеропатології (групи 2), ймовірно, відбувається структурна перебудова протеїнів АМ та ММ, яка супроводжується конформаційними модифікаціями молекул та підвищенням їхньої внутрішньомолекулярної жорсткості. В разі перорального введення шурам БАД FLP-MD досліджувані показники нормалізуються до контрольних значень лише у препаратах АМ (табл. 1).

Функціонування різноманітних мембранних систем, зокрема інтегральних протеїнів, залежить від динамічних властивостей ліпідного оточення [3]. Регуляція активності мембранозв'язаних протеїнів відбувається на рівні молекулярних взаємодій протеїнових молекул та анулярних ліпідів (протеїн-ліпідних), а зміни в'язкості (структурної упорядкованості) ліпідної зони модифікують організацію функціонально-активної конформації протеїнових молекул.

Дослідження мікров'язкості ліпідної компоненти мембран здійснювали з використанням флуоресцентного зонда пірену, гідрофобні молекули якого локалізуються в зоні жирнокислотних ланцюгів фосфоліпідів [20, 27]. Використовуючи метод незалежного визначення в'язкості загальної ліпідної фази ($\lambda_{фл.} = 335$ нм) та анулярних ліпідів ($\lambda_{фл.} = 280$ нм), оцінювали зміни мікров'язкості ліпідної фази обох мембран як описано в роботах [16, 28]. У досліджуваних мембранах у контролі ступінь ексімеризації пірену N_{280} менша порівняно з N_{335} , що віддзеркалює підвищення мікров'язкості ліпідів, які безпосередньо контактують із протеїновими молекулами (табл. 2). Це узгоджується з уявленням про іммобілізувальний вплив протеїнів на вуглецеві залишки ліпідних молекул [29].

Слід відзначити, що за експериментального патогенезу у шурів ступінь ексімериза-

Таблиця 2. Ступінь ексімеризації пірену для загальної ліпідної фази (N_{335}) та анулярних ліпідів (N_{280}) мембранних препаратів ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи шурів	N_{335} , відн. од.	N_{280} , відн. од.
<i>Апікальна мембрана</i>		
1	$0,27 \pm 0,03$	$0,22 \pm 0,02$
2	$0,36 \pm 0,04^*$	$0,27 \pm 0,02^*$
3	$0,26 \pm 0,03^{**}$	$0,22 \pm 0,04$
<i>Мітохондріальна мембрана</i>		
1	$0,33 \pm 0,02$	$0,27 \pm 0,01$
2	$0,27 \pm 0,03^*$	$0,25 \pm 0,02$
3	$0,34 \pm 0,05^{**}$	$0,26 \pm 0,04$

ції пірену для загальної ліпідної фази (N_{335}) та анулярних ліпідів (N_{280}) АМ зростає на 33 та 22% відповідно, що відображує зменшення мікров'язкості ліпідної фази. Крім того, виявлено зниження на 18% ступеня ексімеризації пірену (N_{335}) у препаратах ММ, що свідчить про зростання мікров'язкості загальної ліпідної фази. В'язкість ліпідів є інтегральною величиною, яка залежить від складу фосфоліпідів; вмісту холестеролу, що упорядковує структуру мембрани; кількості ненасичених жирних кислот та ступеня їхньої ненасиченості; інтенсивності перебігу ПОЛ [30, 31]. За корекції патологічних процесів БАД FLP-MD значення показників, що характеризують мікров'язкість мембранних препаратів, нормалізуються до контрольних (табл. 2).

Просторову організацію протеїн-ліпідних комплексів у мембранах оцінювали за ІРПЕ в системі донор-акцептор як описано в роботах [15, 32, 33]. Ефективність ІРПЕ з донора на акцептор значною мірою обумовлено взаємним розташуванням ділянок із переважною локалізацією в мембрані флуорофорів [20, 34]. Ці дані дають можливість оцінити зміни відстані між ними. За результатами гасіння флуоресценції донора акцептором розраховували частку залишків донора, доступних гасінню акцептором, та величину $F_o/F_o - F$ (F_o і F – інтенсивність флуоресценції за відсутності та у присутності гасника відповідно), яка свідчить про ефективність ІРПЕ. Встановлено, що для досліджуваних донорно-акцепторних пар частка молекул донора, доступних гасінню акцептором, не змінюється.

Одержані дані стосовно ефективності ІРПЕ в парі флуорофорів триптофан–пірен показують, що лише в ММ спостерігається вірогідне підвищення значення $F_0/F_0 - F$ (на 40%). Це свідчить про зниження ефективності перенесення енергії в досліджуваній парі, тобто про збільшення відстані між донором та акцептором (табл. 3). Оскільки за ефективністю гасіння триптофанової флуоресценції піреном можна оцінити ступінь занурення протеїнів у ліпідну фазу мембран [20, 21], отримані результати свідчать, що при експериментальній ентеропатології зростає ступінь експонування протеїнів ММ у полярну фазу або агрегація протеїнових молекул як на поверхні, так і всередині бішару. Наведені дані підтверджуються також результатами стосовно зниження інтенсивності триптофанової флуоресценції протеїнових молекул ММ (табл. 1).

Визначення ІРПЕ в парі пірен–АНС показує, що величина $F_0/F_0 - F$ у препаратах АМ та ММ порівняно з контролем зменшується на 67 та 70% відповідно. Оскільки критична відстань перенесення енергії для цієї пари становить 2,8 нм [34], то за показником ефективності ІРПЕ можна оцінити зміни ефективної товщини ліпідної компоненти мембрани. Якщо ефективність ІРПЕ збільшується внаслідок зменшення відстані між зондами в мембрані, то це свідчить про зменшення ефективної товщини як АМ, так і ММ. Введення шцуром БАД FLP-MD нормалізує цей показник до контрольної величини (табл. 3).

Отже, проведені нами дослідження відображують різноманітні деструктивні зміни АМ та ММ ентероцитів тонкої кишки при експериментальній ентеропатології, а саме: модифікацію структурної упорядкованості ліпідної фази, конформаційні зміни протеїнових молекул та підвищення структурної жорсткості (для ММ також переміщення в ній протеїнових молекул) і зміну топографії мембран, що призводить до порушення гідрофобних протеїн-ліпідних взаємодій.

Структурні порушення в досліджуваних мембранах за моделюваної ентеропатології (група 2) спричинюються комплексом взаємопов'язаних та взаємообумовлених процесів. У модифікації ліпідної компоненти мембрани істотну роль відіграють зміни ліпідного та жирнокислотного складу і перебігу ПОЛ. Результати попередніх досліджень [35] свідчать, що у тварин з експериментальним патогенезом вміст холестеролу і загальних фосфоліпідів в АМ та ММ знижується водночас із перерозподілом вмісту окремих фосфоліпідних фракцій. При цьому в ММ порівняно з АМ

Таблиця 3. Ефективність ІРПЕ ($F_0/F_0 - F$, від. од.) в парах флуорофорів пірен–АНС та триптофан–пірен у мембранних препаратах ($M \pm m$, $n = 6$)

Групи шурів	Пірен–АНС	Триптофан–пірен
<i>Апікальна мембрана</i>		
1	3,10 ± 0,80	0,19 ± 0,02
2	0,98 ± 0,60*	0,19 ± 0,03
3	3,97 ± 0,54**	0,18 ± 0,04
<i>Мітохондріальна мембрана</i>		
1	6,51 ± 0,74	0,15 ± 0,02
2	2,02 ± 0,51*	0,21 ± 0,03*
3	8,21 ± 0,94**	0,22 ± 0,03*

виявлено стійкіші зміни, які, вірогідно, віддзеркалюють порушення енергетичних функцій мітохондрій, зумовлених патологічними процесами в організмі. Таким чином, модифікація структурно-динамічних властивостей компонентів біологічних мембран є чинником, який порушує їхні функції при патологічних процесах, зокрема ентеропатології з виразково-ерозійними виявами.

Пероральне введення тваринам БАД FLP-MD сприяє корекції структурних перебудов у мембранах, які пов'язані з його поверхневою та мембранотропною дією. В експериментах із штучними ліпідними мембранами встановлено, що наявність у препараті фосфоліпідів, жирних кислот і вітамінів спричинює модифікаційні зміни в зоні полярних голівок ліпідів, які сприяють проникненню до гідрофобних ділянок мембрани компонентів БАД FLP-MD [36].

Отже, наведені результати свідчать, що особливості структурної перебудови плазматичної (апикальної) та внутрішньої мітохондріальної мембран ентероцитів при експериментальній ентеропатології надалі виявляються у неоднаковій реакції на застосування БАД FLP-MD. Це може бути пов'язано з особливостями як надходження компонентів FLP-MD до клітин, так і їхньою взаємодією з мембранами. Оскільки такі процеси обумовлені, перш за все, конформаційними змінами протеїнових молекул і модифікацією просторової організації протеїн-ліпідних комплексів мітохондріальної мембрани, корекцію патологічних змін БАД FLP-MD слід здійснювати з урахуванням зазначених особливостей.

**СТРУКТУРНО-ДИНАМИЧЕСКИЕ
СВОЙСТВА АПИКАЛЬНОЙ
И МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ
МЕМБРАН ЭНТЕРОЦИТОВ
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ
ЭНТЕРОПАТОЛОГИИ И МЕТОД
ЕЕ КОРРЕКЦИИ**

Д. А. Мельничук¹, С. В. Хижняк²,
В. А. Грищенко¹, Е. А. Кисиль²,
В. М. Войцицкий²

¹Национальный университет биоресурсов
и природопользования Украины, Киев;

²Киевский национальный университет
имени Тараса Шевченко, Украина;
e-mail: vmv@biocc.univ.kiev.ua

Проведены исследования структурно-динамического состояния апикальной и митохондриальной мембран энтероцитов тонкого кишечника крыс в условиях экспериментальной энтеропатологии и его модификации при использовании биологически активной добавки (БАД) FLP-MD. Полученные нами данные свидетельствуют о разносторонних деструктивных мембранных изменениях при патологическом процессе, проявляющихся в модификации структурной упорядоченности липидной фазы мембран, конформационных и динамических свойствах протеинов, их топографии и нарушении гидрофобных протеин-липидных взаимодействий. Установлены отличия в реакции апикальной и митохондриальной мембран на коррегирующее воздействие БАД FLP-MD, что обусловлено особенностями их структурно-функциональных свойств.

Ключевые слова: энтеропатология, биологически активная добавка FLP-MD, апикальная и митохондриальная мембраны, структура мембран, флуоресцентные зонды.

**STRUCTURAL AND DYNAMICAL
PROPERTIES OF APICAL AND
MITOCHONDRIAL MEMBRANES
OF ENTEROCYTES AT EXPERIMENTAL
ENTERIC PATHOLOGY AND THE
METHOD OF ITS CORRECTION**

D. O. Melnychuk¹, S. V. Khyzhnyak²,
V. A. Grishchenko¹, O. O. Kysil²,
V. M. Voitsitsky²

¹National University of Bioresources and
Nature Tenure of Ukraine, Kyiv;

²Taras Shevchenko Kyiv National University, Ukraine;
e-mail: vmv@biocc.univ.kiev.ua

S u m m a r y

Structural and dynamical state of the apical and mitochondrial membranes of enterocytes of the rat small intestine under experimental enteric pathology conditions have been investigated. The modifications of structural and dynamical features of membranes at the use of BAA FLP-MD have been shown. The similarities arising in the versatile destructive changes of membranes are as follows: modification of the lipid phase structure of the membrane, changes in dynamical properties of membrane components and topography, disorders of hydrophobic protein-lipid interactions, conformational changes of protein molecules etc. The differences in correction conditions of the revealed changes of the apical and mitochondrial membranes when using BAA FLP-MD were shown, that is determined by peculiarities of the structural and functional features of these membranes.

Key words: enteric pathology, BAA FLP-MD, apical and mitochondrial membranes, the structure of membranes, fluorescent probes.

1. Кагава Я. Биомембраны. — М.: Высш. школа, 1985. — 303 с.

2. Рыскулова С. Т. Радиационная биология плазматических мембран. — М.: Энергоатомиздат, 1986. — 128 с.
3. Геннис Р. Биомембраны. Молекулярная структура и функции. — М.: Мир, 1997. — 624 с.
4. Алимova Е. К., Аствацатурьян А. Т., Жаров Л. В. Липиды и жирные кислоты в норме и при ряде патологических состояний. М.: Медицина, 1975. — 279 с.
5. Пат. № 78306 UA. Ветеринарна біологічно активна добавка та спосіб репаративної терапії при диспепсії новонароджених телят / Д. О. Мельничук; В. А. Грищенко. А. 61К 35/20; Заявл. 02.11.2004; Опубл. 15.03.2007, Бюл. № 3.
6. Терещенко С. В., Литвиненко О. М., Грищенко В. А. // Конф. проф.-викл. складу, наук. співр. і аспірантів ННІ ветеринарної медицини та якості і безпеки продукції тваринництва. Київ, НАУ. — 2006. — С. 114.
7. Пат. № 83904 UA. Спосіб моделювання медикаментозного гастроентериту з виразково-ерозійним процесом у лабораторних щурів / Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Терещенко С. В., Реброва З. Б. — G09B 23/28; Заявл. 16.10.2006; Опубл. 26.08.2008. Бюл. № 16.
8. Грищенко В. А., Реброва З. Б., Сисолятин С. В. // Ветер. мед. України. — 2007. — № 11. — С. 18–21.
9. Hopfer U., Nelson K., Perroto J. // J. Biol. Chem. — 1973. — **248**, N 1. — P. 25–32.
10. Шабалина И. Г., Колосова Н. Г., Гришкова А. Ю. и др. // Биохимия. — 1995. — **60**, вып. 12. — С. 2045–2052.
11. Kitagawa Y., Sugimoto E. // J. Biochemie. — 1980. — **88**, N 3. — P. 689–693.
12. Jemhoff W. G., Van den Berg J. W., Pieper A. M., Hulsman W. C. // Biochim. Biophys. Acta. — 1971. — **23**, N 3. — P. 429–434.
13. Lowry O. H., Rosebrouhg N. J., Farr A. L., Randall R. J. // J. Biol. Chem. — 1951. — **193**, N 1. — P. 265–275.
14. Журнов В. В., Войціцький В. М., Хижняк С. В. та ін. // Доп. НАН України. — 2007. — **4**. — С. 183–186.
15. Мельничук Д. О., Грищенко В. А., Хижняк С. В. та ін. // Там само. — **5**. — С. 165–169.
16. Литвинов И. С., Образцов В. В. // Биофизика. — 1982. — **27**, № 1. — С. 81–86.
17. Демченко А. П. Люминесценция и динамика структуры белков. — К.: Наук. думка, 1988. — 280 с.
18. Горбенко Г. П., Дюбко Т. С., Крупин В. Д. // Укр. биохим. журн. — 1998. — **70**, № 3. — С. 109–113.
19. Кучеренко М. Є., Бабенюк Ю. Д., Войціцький В. М. Сучасні методи біохімічних досліджень. — К.: Фітосоціоцентр, 2001. — 424 с.
20. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеидов. — М.: Наука, 1989. — 277 с.
21. Прищеп С. Г., Герасимович Н. В., Буланова К. Я., Милютин А. А. // Радиационная биология. Радиозэкология. — 2000. — **40**, № 2. — С. 154–159.
22. Шустанова Т. А., Милютин Н. П., Бондаренко Т. И. // Биол. мембраны. — 2001. — **18**, № 5. — С. 375–381.
23. Зима Г. В., Древаль В. И. // Радиационная биология. Радиозэкология. — 2000. — **40**, № 3. — С. 261–265.
24. Грищенко В. А. // Укр. біохім. журн. — 2004. — **70**, № 5. — С. 102–106.
25. Лактович Дж. Основы флуоресцентной спектроскопии. — М.: Мир, 1986. — 236 с.
26. Eftink M., Ghiron C. // Anal. Biochem. — 1981. — **114**, N 2. — P. 199–227.
27. Владимиров Ю. А., Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. — М.: Наука, 1980. — 320 с.
28. Дергунов А. Д., Капрельяни А. С., Кабишев А. А. и др. // Биохимия. — 1982. — **47**, вып. 2. — С. 296–303.
29. Dunker A. K., Williams R. W., Yaber B. P., Peticolas W. L. // Biochem. Biophys. Acta. — 1979. — **553**, N 2. — P. 351–357.
30. Владимиров Ю. А., Арчаков А. И. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. — М.: Наука, 1972. — 256 с.
31. Galla H. J., Luiset J. // Biochem. Biophys. Acta. — 1980. — **596**, N 1. — P. 108–117.
32. Хижняк С. В. // Укр. биохим. журн. — 1998. — **70**, № 1. — С. 48–52.
33. Хижняк С. В., Кисиль Е. А., Лапоша Е. А. и др. // Радиационная биология. Радиозэкология. — 2006. — **46**, № 1. — С. 27–33.
34. Фоменко Б. С., Длимбетова Г. К., Акоев И. Г. // Радиобиология. — 1985. — **25**, № 1. — С. 12–15.
35. Степанова Л. І., Грищенко В. А., Реброва З. І., Хижняк С. В. // Вісн. КНУ імені Тараса Шевченка. Біологія. — 2007. — Вип. 49. — С. 48–50.
36. Мельничук Д. О., Войціцький В. М., Хижняк С. В. та ін. Мембраномодулююча дія фосфоліпідвмісної біологічно активної добавки FLP-MD // Вісн. Харків. ун-ту. Серія: біологія. — 2008. — Випуск 8. — С. 170–176.

Отримано 12.05.2008