

УДК 546.65-022.532:5773352.5

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ НА ОСНОВЕ ОРТОВАНАДАТОВ РЕДКОЗЕМЕЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И ОКСИДА ЦЕРИЯ НА БИОЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ В МИТОХОНДРИЯХ ГЕПАТОЦИТОВ

Аверченко Е.А.^{1*}, Кавок Н.С.¹, Никитченко Ю.В.², Клочков В.К.¹,
Малюкина М.Ю.¹, Климов С.А.¹, Ткачева Е.Н.³, Ефимова С.Л.¹

¹ Институт сцинтилляционных материалов НАН Украины, пр. Ленина 60, Харьков, 61001, Украина
Тел: +380573410332

e-mail: averchenko@isma.kharkov.ua

² Научно-исследовательский институт биологии ХНУ им. В.Н. Каразина, пл. Свободы 4, Харьков, 61077, Украина

³ Одесский национальный политехнический университет, пр. Шевченко 1, Одесса, 165044, Украина

Поступила в редакцию 12 мая 2015 года

Принята 25 мая 2015 года

Исследованы особенности влияния новосинтезированных наночастиц (НЧ) на основе редкоземельных элементов, а именно ортованадатов и оксида церия, с различными геометрическими параметрами на митохондриальный потенциал ($\Delta\Psi_m$) и процессы дыхания и окислительного фосфорилирования печени. Снижение $\Delta\Psi_m$ под воздействием НЧ ортованадатов и CeO_2 (1-2 нм), а так же уровня АТФ в изолированных митохондриях свидетельствует о том, что энергетические процессы в митохондриях являются мишенью при действии НЧ. Наибольший ингибирующий эффект проявляли экстремальные сферические (ортованадатные и CeO_2 размером 1-2 нм) частицы, и только CeO_2 размером 8-10 нм не оказывал негативного влияния на все исследуемые показатели.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: редоксактивные наночастицы, митохондриальный потенциал, митохондриальное дыхание.

ВПЛИВ НАНОЧАСТИНОК НА ОСНОВІ ОРТОВАНАДАТІВ РІДКІСНОЗЕМЕЛЬНИХ ЕЛЕМЕНТІВ ТА ОКСИДУ ЦЕРІЮ НА БІОЕНЕРГЕТИЧНІ ПРОЦЕСИ В МИТОХОНДРИЯХ ГЕПАТОЦИТІВ

Аверченко К.А.^{1*}, Кавок Н.С.¹, Нікітченко Ю.В.², Клочков В.К.¹, Малюкіна М.Ю.¹, Клімов С.А.¹,
Ткачева О.М.³, Єфімова С.Л.¹

¹ Інститут сцинтиляційних матеріалів НАН України, пр. Леніна 60, Харків, 61001, Україна

² Науково-дослідний інститут біології ХНУ ім. В.Н. Каразіна, пл. Свободи 4, Харків, 61077, Україна

³ Одеський національний політехнічний університет, пр. Шевченка 1, Одеса, 65044, Україна

Досліджено особливості впливу новосинтезованих наночастинок (НЧ) на основі рідкісноземельних елементів, а саме ортованадатів та оксиду церію, з різними геометричними параметрами на митохондриальний потенціал ($\Delta\Psi_m$) та процеси дихання та окисного фосфорилування печінки. Зниження $\Delta\Psi_m$ під впливом НЧ ортованадатів та CeO_2 (1-2 нм), а також рівня АТФ в ізольованих митохондріях свідчить про те, що енергетичні процеси в митохондріях є мішенню при дії НЧ. Найбільший пригнічуючий ефект демонстрували екстремалі сферичні (ортованадатні та CeO_2 розміром 1-2 нм) частинки, і тільки CeO_2 із розміром 8-10 нм не виявив негативного впливу на всі досліджені показники.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: редоксактивні наночастинки, митохондриальний потенціал, митохондриальне дихання.

INFLUENCE OF RARE-EARTH BASED ORTHOVANADATE NANOPARTICLES AND CERIUM OXIDE ON BIOENERGETIC PROCESSES IN MITOCHONDRIA OF HEPATOCYTES

Averchenko K.A.¹, Kavok N.S.¹, Nikitchenko Yu.V.², Klochkov V.K.¹, Malyukina M.Yu.¹, Klimov S.A.¹,
Tkacheva E.N.³, S.L. Yefimova¹

¹ Institute for Scintillation Materials National Academy of Sciences of Ukraine, 60 Lenin Ave., Kharkiv, 61001, Ukraine

² Research institute of Biology V.N. Karazin National University, 4 Svobody Sq., Kharkiv, 61077, Ukraine

³ Odessa national polytechnic university, 1 Shevchenko Ave., Odessa, 65044, Ukraine

The features of influence of newly synthesized nanoparticles (NPs) based on the rare earth elements, namely orthovanadates and cerium oxide, with the different geometrical parameters on the mitochondrial potential ($\Delta\Psi_m$) and respiration and oxidative phosphorylation of the liver were investigated. Reduction of $\Delta\Psi_m$, as well as the ATP level in isolated mitochondria under influence of orthovanadates and CeO_2 (1-2 nm) NPs suggests that energy processes in the mitochondria are the target of the action of NPs. The highest inhibitory effect was shown by ekstrasmall spherical (orthovanadate and CeO_2 of 1-2 nm) particles and only CeO_2 with sizes of 8-10 nm have no a negative influence on all investigated parameters.

KEY WORDS: redoxactive nanoparticles, mitochondrial potential, mitochondrial respiration.

Наночастицы (НЧ) на основе редкоземельных элементов (РЗЭ) имеют значительный потенциал для биомедицинского применения [1]. Была продемонстрирована возможность их использования для различных биологических целей, охватывающих различные области молекулярной и клеточной биологии в исследованиях *in vitro* и *in vivo*. Наличие оптических свойств НЧ, легированных РЗЭ, может быть использовано для получения различных типов изображений [2,3]. Перспективные фотофизические свойства таких НЧ включают в себя высокую фотостабильность, отсутствие мерцания, узкие эмиссионные линии, большие времена жизни. К преимуществам НЧ этой группы относятся также относительная нетоксичность, способность находиться в водных растворах в коллоидном состоянии и легкость функционализации, которая позволяет провести сочетание наноразмерного носителя с различными биологически активными молекулами и функциональными группами. Сообщалось о получении многофункциональных ванадатных НЧ, легированных РЗЭ, которые могут использоваться в качестве люминесцентных зондов, оксидантных сенсоров с пространственно-временным измерением, и контрастных агентов для магнитно-резонансной томографии [4].

Особое внимание уделяется изучению редоксактивности НЧ. С управляемой редоксактивностью связывают перспективу использования НЧ на основе РЗЭ в качестве оксидантных сенсоров [5] или в качестве ловушек свободных радикалов [6]. Особое внимание исследователей привлекает диоксид церия. Нестехиометрия церия в нанокристаллическом состоянии дает возможность его участия в различных окислительно-восстановительных процессах, в частности, в инактивации некоторых из наиболее токсичных активных форм кислорода (АФК), таких как пероксид водорода, супероксидный и нитроксильный радикалы. Однако некоторыми исследователями выявлен ряд отрицательных эффектов НЧ данного типа – цитотоксических и проапоптических [7,8]. Более того, указывается, что токсические эффекты НЧ оксида церия могут реализоваться через развитие оксидативного стресса. Необходимо также учитывать роль АФК в регуляции физиологических и биохимических процессов. Они выполняют функцию меж- и внутриклеточных мессенджеров, регуляторов и составляющих метаболических процессов, являясь самым первым и наиболее мобильным звеном в адаптационной перестройке организма при экстремальных воздействиях. Поэтому влияние редоксактивных НЧ может приводить к изменениям или даже нарушениям тех или иных звеньев регуляторного механизма.

Свободные радикалы играют важную роль в транспорте электронов в дыхательной цепи. Интеграция редоксактивных НЧ в процессы переноса электронов может сопровождаться нарушениями функционального состояния митохондрий, приводить к окислительному дисбалансу и клеточной гибели. Митохондрии являются целевыми органеллами и главной токсической мишенью даже при воздействии НЧ, демонстрирующих в различных системах антиоксидантные свойства. При этом цитотоксичность реализуется через митохондриальную недостаточность, связанную с открытием митохондриальной поры, митохондриальной деполяризацией и

торможением синтеза АТФ на ранней стадии, окислению восстановленного глутатиона (GSH) и тиоловых групп белков, и перекисного окисления липидов через окислительный стресс на более позднем этапе [9].

Характеристики, которые определяют реакционную активность наноматериалов – это их размер, химический состав, методы получения и синтеза, наличие функциональных химических групп на поверхности, форма и радиус кривизны поверхности, ее гетерогенность и наличие пор, гидрофильность/гидрофобность. В биологических системах действие всех этих составляющих дополняется особенностями биологических реакций, и оценка редоксактивности НЧ и индуцированных изменений окислительного баланса в живых системах должна проводиться на разных структурных уровнях и в динамике развития процесса. Митохондриальный потенциал ($\Delta\Psi_m$) является показателем не только митохондриальной активности, но и функционального состояния клеток в целом. Установление взаимосвязи между редоксактивностью НЧ и их способностью изменять $\Delta\Psi_m$, а значит и процессы клеточного дыхания и окислительного фосфорилирования и степень их сопряжения, необходимо для решения вопроса о механизмах действия НЧ на митохондриальные процессы и разработки стратегии управляемого воздействия частиц. Применение наноматериалов с управляемой редоксактивностью для восстановления окислительного гомеостаза имеет значительные перспективы для коррекции состояний, связанных с окислительным дисбалансом.

В данной работе исследовалась способность редоксактивных НЧ на основе ортованадатов редкоземельных элементов различной формы и размеров – сферической, веретеноподобной и стержнеподобной, а так же CeO_2 сферической формы, с размерами 1-2 нм и 8-10 нм, влиять на $\Delta\Psi_m$ гепатоцитов, интенсивность дыхания и окислительного фосфорилирования в изолированных митохондриях печени крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Синтез водных растворов ортованадатов редкоземельных элементов $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (Re = Gd, Y, La) и оксида церия был выполнен согласно методам, описанным ранее [2, 3, 10]. Сферические НЧ размером 1-2 нм имеют состав $\text{Gd}_{0,6-0,8}\text{Y}_{0,1-0,3}\text{VO}_4:\text{Eu}^{3+}_{(0,1)}$, веретеноподобные (25×8 нм) – $\text{Gd}_{0,9}\text{VO}_4:\text{Eu}^{3+}_{(0,1)}$, стержнеподобные (57×6-8 нм) – $\text{La}_{0,9}\text{VO}_4:\text{Eu}^{3+}_{(0,1)}$.

Известно, что НЧ в биологических матриксах имеют тенденцию к агрегации, поэтому было проведено исследование влияния среды инкубации клеток (среда ИГЛА, с 10% эмбриональной сывороткой, pH=7,4) на распределение НЧ по размерам и ζ -потенциал с помощью прибора ZetaPALS/BI-MAS (Brookhaven Instruments Corporation, США). Распределение НЧ по размерам определяли методом динамического рассеяния света (ДРС) (длина волны излучения лазера 659 нм) при угле рассеяния 90°. Измерения проводили в специальной полистирольной кювете (BI-SCP). Перед началом измерений исследуемые растворы термостатировали при температуре 25°C. При концентрации НЧ в исследуемых растворах 0,05 г/л, значения ζ -потенциала НЧ в среде ИГЛА незначительно снижаются за счет содержащихся в среде неорганических электролитов [10]. Изменений распределения фракций по размерам и коагуляции НЧ в среде ИГЛА не наблюдалось.

Флуоресцентный анализ клеток был выполнен с помощью JC-1 (5,5',6,6'-tetrachloro-1,1',3,3'-tetraethylbenzimidazolocarboxyanine iodide), как описано в [10,11]. Гепатоциты были выделены из печени крыс – самцов популяции Вистар с массой тела 180-200 г согласно методу, описанному ранее [12] и в соответствии с Международными принципами «Европейской конвенции о защите позвоночных

животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986), одобренными III Национальным конгрессом Украины по биоэтике (Киев, 2007). Инкубацию клеток с красителем JC-1 (10^{-6} М) проводили в среде Игла рН=7,4 при концентрации $5 \cdot 10^5$ кл/мл не менее 60 мин. Затем 50 мкл исходного раствора НЧ (с концентрацией 1 г/л) соответствующего типа добавили к соответствующему образцу и инкубировали в течение 24 ч. При этом конечная концентрация НЧ в инкубационной среде составила 0,05 г/л. Наблюдение и фотографирование клеток осуществляли с помощью люминесцентного микроскопа Olympus IX71 (Токуо, Japan) и цифровой камеры Olympus C-5060 (Токуо, Japan). Для мономеров красителя JC-1 полоса возбуждения составляла 450-490 нм, полоса люминесценции 500 нм и выше. Для агрегатов эти параметры составляли – 510-560 нм и 570 нм и выше, соответственно. Оценивали интегральную яркость клеток, нормализованную по отношению к фону. Данные усреднены из ~ 25-30 клеток на подложке для каждого исследованного образца. Результаты выражены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего из 4-5 независимых экспериментов.

Выделение митохондрий печени. Митохондрии выделяли методом дифференциального центрифугирования [13] в модификации [14] из гомогената печени (соотношение навески ткани и объема среды выделения – 1:7). Состав среды выделения: 0,3 М сахараза, 1 мМ трилон Б, 10 мМ трис-НСl, рН=7,4. Фракцию МХ получали с одной или двумя промывками в среде выделения без трилона Б; в этой же среде суспендировали и конечный осадок. После выделения изолированные митохондрии (с концентрацией белка $41,89 \pm 0,85$ мг/мл,) ресуспендировали в 0,1 М трис-буфере, рН=7,4. Затем были добавлены НЧ (с конечной концентрацией в образцах – 0,05 г/л), и образцы инкубировались при 25°C в течение 20 мин., после чего были помещены в лед. Инкубация митохондрий с НЧ при 25°C в течение 20 необходима для развития эффектов частиц. Необходимо отметить, что никаких отличий в функциональном состоянии митохондрий между контрольными образцами (без НЧ), пребывавшими при 25°C 20 мин., и контрольными образцами также без НЧ, которые находились на льду в течение всего эксперимента, не наблюдалось.

Измерение люминол - зависимой хемилюминесценции (ХЛ) проводилось так же, как описано в [15]. Реакционная среда содержала реактив Фентона: 0,05 М трис-буфер рН=7,4, 50 мкМ люминол, 10 мкМ Fe^{2+} . Реакция активировалась 1,35 мМ пероксидом водорода. Спектры ХЛ измерялись с помощью хемилуминометра Lum-5773 (Россия). Светосумму и интенсивность вспышки ХЛ измеряли в течение 5 мин.

Полярографическое измерение дыхания и окислительного фосфорилирования. Дыхание митохондрий определяли с помощью закрытого кислородного электрода Кларка [15] в термостатируемой ячейке (30°C) в реакционной среде следующего состава: 150 мМ сахараза, 75 мМ КСl, 10 мМ KH_2PO_4 , 2 мМ $MgCl_2$, 10 мМ трис-НСl, рН=7,4, 0,6 – 1,2 мг белка в 1 мл. Субстраты окисления, глутамат+малат, вносили в концентрациях по 4 мМ. Концентрация вносимого АДФ составляла 400 мкМ. Дополнительные добавки в полярографическую ячейку в зависимости от типа измеряемой активности: ЭГТА – 1 или 2 мкМ, БСА (обезжиренный, V фракция) – 1 мг/мл. По кривым потребления кислорода рассчитывали скорости дыхания митохондрий в метаболических состояниях 2 и 3 по Чансу (V_2 и V_3), дыхательный контроль (ДК, V_3/V_2).

Определение уровня АТФ. АТФ определяли с помощью экзогенных гексогеназы и глюкозо-6-фосфата по методу [16], описанному в [17].

Определение содержания белка. Содержание белка в исследуемых образцах определяли по методу Бредфорда [18].

В случае измерения ХЛ, уровня АТФ и полярографических исследований данные усреднены из 5 идентичных повторов для каждого исследованного образца. Результаты выражены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего из 4-5 независимых экспериментов.

Необходимо отметить, что при проведении всех вышеперечисленных экспериментов каждый вариант воздействия сравнивали со своим контролем. Результаты статистически обработаны с помощью программного обеспечения Statistika v. 5.0 (StatSoft, США) и Origin 6.1 (Origin Lab Corporation, США), используя t-критерий Стьюдента. Полученные результаты статистически значимо отличаются при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее в наших экспериментах с помощью ХЛ мы показали, что, в зависимости от микроокружения, НЧ демонстрируют различные эффекты [19]. В абиотической системе все частицы в независимости от материала, формы и размера демонстрируют антирадикальную активность. В биотических же системах (гомогенат печени или изолированные гепатоциты) экстрамалые НЧ – сферические ортованадатные и CeO_2 размером 1-2 нм – активируют дополнительную генерацию свободных радикалов и перекисидацию липидов, и только CeO_2 8-10 нм сохраняет антирадикальную активность. Поскольку митохондрии являются основным источником и основной целью АФК [20], ожидаемо, что способность НЧ стимулировать или угнетать интенсивность свободнорадикальных процессов так же будет фактором их влияния на митохондриальную функцию.

С помощью ХЛ мы обнаружили, что в изолированных митохондриях сферические ортованадатные НЧ проявляют прооксидантный эффект (Рис. 1). Мы предполагаем, что благодаря экстремальным размерам данные НЧ непосредственно взаимодействуют с мембраной митохондрий, и, повреждая её, вызывают дисфункцию митохондриальных пор, синтеза АТФ, что приводит к нарушениям в балансе производимых митохондриями АФК.

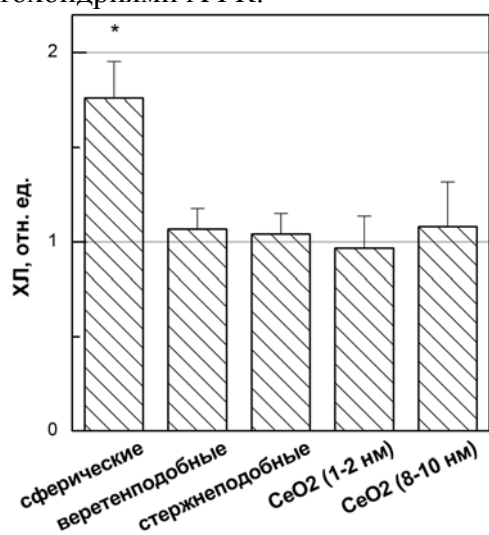


Рис. 1. Воздействие НЧ на изолированные митохондрии по показателю ХЛ (* $p < 0.05$ по сравнению с контролем)

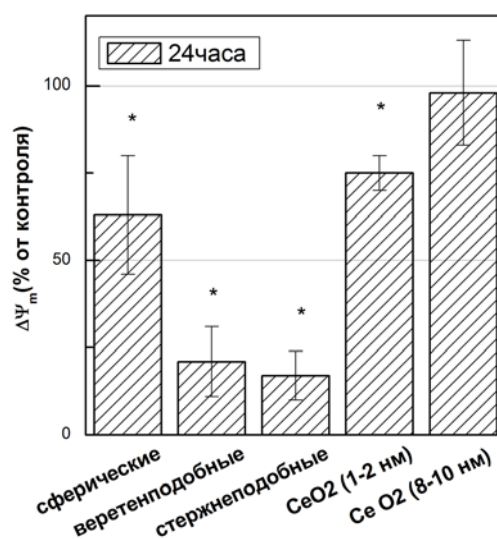


Рис. 2. Изменение митохондриального потенциала при воздействии НЧ через 24 ч (* $p < 0.05$ по сравнению с контролем)

Дальнейшее исследование влияния НЧ на митохондриальный потенциал с помощью JC-1 показало, что через 24 ч. наблюдается значительное падение флуоресценции J-агрегатов (Рис. 2), что свидетельствует о снижении энергизации мембраны митохондрий, следствием чего может быть аномальная продукция АФК и развитие окислительного дисбаланса в клетках. В случае экстремальных частиц CeO_2 также происходило падение $\Delta\Psi_m$, но в отличие от всех типов ортованадатных НЧ, значительно менее выраженное.

Для более детального изучения механизма действия НЧ исследовали их влияние непосредственно на процессы дыхания изолированных митохондрий. Определяли следующие показатели: ДК, который представляет собой соотношение скорости фосфорилирующего дыхания в состоянии V_3 и скорости субстратного дыхания в состоянии V_2 , и характеризует степень сопряжения процессов дыхания и окислительного фосфорилирования, а так же уровень АТФ в митохондриях после воздействия НЧ.

В данных экспериментальных условиях при действии сферических ортованадатных НЧ наблюдалось лишь незначительное снижение ДК (Рис. 3 а). Это объясняется относительно одинаковым по степени ингибированием скоростей V_2 и V_3 частицами данного типа (по сравнению с контролем V_2 снижается в 2,5 раза, а V_3 – почти в 3,5 раза). Веретеноподобные и стержнеподобные частицы не оказывали существенного влияния на ДК. CeO_2 размером 8-10 нм также не влияет на ДК. Однако при воздействии всех типов НЧ ортованадатов и малых частиц CeO_2 уровень АТФ в митохондриях снижен (Рис. 3 б), причем больше всего это снижение выражено у экстремальных сферических частиц – ортованадатов и CeO_2 .

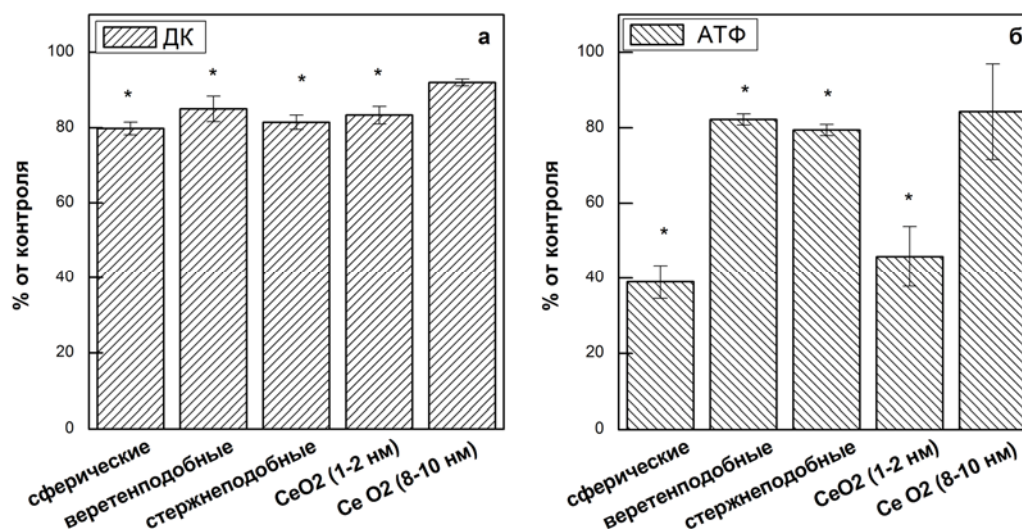


Рис. 3. Влияние НЧ на основные показатели изолированных митохондрий: а - дыхательный контроль; б - концентрация АТФ (* $p < 0.05$ по сравнению с контролем)

Наблюдаемые эффекты могут быть связаны с редоксактивностью НЧ и их способностью непосредственно вмешиваться в электрон-транспортные процессы в качестве ловушек или генераторов свободных радикалов. Также в случае ванадатных частиц эффект может быть обусловлен частичным высвобождением из кристаллов анионов ванадата и их структурным сходством с ионами фосфата. Ванадат – ингибитор дыхательной цепи митохондрий, окисляющих глутамат и сукцинат, а также может быть конкурентным ингибитором сукцинатдегидрогеназы и митохондриальных АТФаз

[21,22]. Для малых сферических частиц, как ортованадатов, так и диоксида церия, нельзя исключать также возможности проникновения в митохондрии, механического повреждения мембран вследствие их малых размеров и высокой склонности к агрегации.

То, что почти все НЧ, за исключением CeO_2 размером 8-10 нм, подавляют митохондриальное дыхание, подтверждают данные, полученные с помощью зонда JC-1 и свидетельствуют о том, что биоэнергетические процессы в митохондриях являются мишенью при действии исследуемых НЧ.

ВЫВОДЫ

Наибольшее подавление $\Delta\Psi_m$ клеток и процессов дыхания изолированных митохондрий происходит в разной степени при воздействии исследуемых НЧ, исключая диоксид церия размером 8-10 нм. Супрессирующий эффект ортованадатных НЧ на $\Delta\Psi_m$ может частично определяться влиянием ионов, которые высвобождаются с поверхности частиц при метаболических превращениях в клетках, и сходством фосфатов и ванадатов, а в эффектах в случае CeO_2 , наоборот, значение может иметь способность к образованию комплексов с фосфатами. Найденные регуляторные особенности действия НЧ на митохондриальную активность являются основанием и важным шагом для следующих этапов исследования частиц с целью их медицинского применения в качестве диагностических агентов или компонентов лекарственных препаратов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bouzigues C. Biological applications of rare-earth based nanoparticles / C. Bouzigues, Th. Gacoïn, A. Alexandrou // *ACS Nano*. – 2011. – V. 5 (11). – P. 8488-8505.
2. Характеристики зольей $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (Re = La, Gd, Y, Sm) с наночастицами разной формы и размеров. В.К. Клочков, А.В. Григорова, О.О. Седых, [и др.] // *ЖПС*. – 2012. – 79(5). – С. 738-742. /Harakteristiki zolej $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (Re = La, Gd, Y, Sm) s nanochasticami raznoj formy i razmerov. V.K. Klochkov, A.V. Grigorova, O.O. Sedyh, [i dr.] // *ZhPS*. – 2012. – 79 (5). – S. 738-742.
3. The influence of agglomeration of nanoparticles on their superoxide dismutase-mimetic activity / V.K. Klochkov, A.V. Grigorova, O.O. Sedyh, Y.V. Malyukin // *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. – 2012. - V. 409 – P. 176-182.
4. Multifunctional rare-Earth vanadate nanoparticles: luminescent labels, oxidant sensors, and MRI contrast agents / M. Abdesselem, M. Schoeffel, I. Maurin, [et al] // *ACS Nano*. – 2014. – V. 8 (11). – P. 11126-37.
5. Single europium-doped nanoparticles measure temporal pattern of reactive oxygen species production inside cells / D. Casanova, C. Bouzigues, T. Nguyen, [et al] // *Nat Nanotechnol*. – 2009. – V. 4. – P. 581-585.
6. Cerium and yttrium oxide nanoparticles are neuroprotective / D. Schubert, R. Dargusch, J. Raitano, S.W. Chan // *Biochem Biophys Res Commun*. – 2006. – V. 342 (1). – P. 86-91.
7. Cerium dioxide nanoparticles induce apoptosis and autophagy in human peripheral blood monocytes / S. Hussain, F. Al-Nsour, A. Rice, [et al] // *ACS Nano*. - 2012. – V. 6 (7). – P. 5820-5829.
8. Cytotoxic effects of hydroxylated fullerenes on isolated rat hepatocytes via mitochondrial dysfunction / Y. Nakagawa, T. Suzuki, H. Ishii, [et al] // *Arch Toxicol*. – 2011. – V. 85. – P. 1429-1440.
9. Lanthanide phosphate nanorods as inorganic fluorescent labels in cell biology research / P. Ranjan, Bh. Resham, P. Sujata, [et al] // *Clinical chemistry*. – 2007. – V. 53(11) – P. 2029-2031.
10. Mitochondrial potential ($\Delta\Psi_m$) changes in single rat hepatocytes: The effect of orthovanadate nanoparticles doped with rare-earth elements / N.S. Kavok, K.A. Averchenko, V.K. Klochkov, [et al] // *European Physical Journal: E Soft Matter and Biological Physics*. – 2014. – V. 37 (12). – P. 127.
11. The energy-state of the hepatocytes of satiated rats, isolated with the use of EDTA and vibration / A.Yu. Petrenko, V.P. Grishuk, A.N. Sukach, [et al] // *Biochemistry (Moscow)*. – 1989. – V. – 54 (12). – P. 1952-1955.
12. Interaction of Ca^{2+} with endoplasmatic reticulum of rat liver: a standart procedure for the isolation of microsomes / S. A. Kamatch, K. A. Narayan // *Anal. Biochem*. – 1972. – V. – 48 (1). – P. 53 – 61.
13. Возрастные перестройки структурно-функционального состояния мембранных редокс-систем: автореф. дис. на соискание научн. степени докт. биол. наук: спец. 03.00.02 «Биофизика» / В. В. Лемешко. – Минск, 1983. – 36 с. / *Vozrastnye perestrojki strukturno-funkcional'nogo sostojaniya membrannyh redoks-*

- sistem: avtoref. dis. na soiskanie nauchn. stepeni dokt. biol. nauk: spec. 03.00.02 «Biofizika» / V. V. Lemeshko. – Minsk, 1983. – 36 s.
14. Хемилюминесцентная диагностика свободнорадикальных процессов в абиотической системе и в клетках печени в присутствии наночастиц на основе редкоземельных элементов $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (Re = Gd, Y, La) и CeO_2 / Е.А. Аверченко, Н.С. Кавок, В.К. Клочков, Ю.В. Малюкин // Журнал прикладной спектроскопии. – 2014. Вып. – 81 (5). – С. 754-760. / Hemiljuminiscentnaja diagnostika svobodnoradikal'nyh processov v abioticheskoj sisteme i v kletkah pecheni v prisutstvii nanochastic na osnove redkozemel'nyh jelementov $n\text{ReVO}_4:\text{Eu}^{3+}$ (Re = Gd, Y, La) i CeO_2 / E.A. Averchenko, N.S.Kavok, V.K. Klochkov, Ju.V. Maljukin // Zhurnal prikladnoj spektroskopii. – 2014. Vyp. – 81(5). – S. 754-760.
 15. Скулачев В.П. Аккумуляция энергии в клетке / В. П. Скулачев. – М.: Наука, 1969. – 440 с. / Skulachev V. P. Akkumuljacija jenergii v kletke / V. P. Skulachev. – M.: Nauka, 1969. – 440 s.
 16. Lamprecht W., Trautschold I. / Methods of enzymatic analysis // W. Lamprecht, I. Trautschold - New York: Acad. Press., 1965. – P. 543-551.
 17. Методы биохимических исследований / [под ред. М.И. Прохоровой]. – Л.: ЛГУ, 1982. – 272 с. / Metody bihimicheskikh issledovanij / [pod red. M.I. Prohorovoj]. – L.: LGU, 1982. – 272 s.
 18. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding / M.M. Bradford // Analytical Biochemistry – 1976. – V. 72. – P. 248-254.
 19. Aluminium oxide nanoparticles induce mitochondrial-mediated oxidative stress and alter the expression of antioxidant enzymes in human mesenchymal stem cells / A.A. Alshatwi, P.V. Subbarayan, E. Ramesh, [et al] // Food Addit. Contam. Part A: Chem. Anal. Control. Expo. Risk Assess. – 2013. – V. 30 (1). – P. 1–10.
 20. Действие аналогов фосфата – арсената и ванадата – на мембранный потенциал митохондрий / Е.А. Либерман, О.Л. Мякотина, Л.М. Цофина // Биологические мембраны. – 1987. – Вып. 4 (11). – С. 1216-1220. / Dejstvie analogov fosfata – arsenata i vanadata – na membrannyj potencial mitohondrij / E. A. Liberman, O. L. Mjakotina, L. M. Cofina // Biologicheskie membrany. – 1987. – Vyp. 4(11). – S. 1216-1220.
 21. The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds / D.C. Crans, J.J. smee, E. Gaidamauskas, L. Yang // Chem. Reviews – 2004. – V. – 104 (2). – P. 849-902.
 22. Interaction of vanadate with respiratory chain of rat liver and wheat seedling mitochondria / J.Z. Byczkowski, L. Zychlinski, J. Tluczkiwicz // Int. J. Biochem. – 1979. – V. 10. – P. 1007-1011.