

ІСТОРІЯ БІОХІМІЇ

ДОСЛІДЖЕННЯ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА ФУНКЦІОНУВАННЯ Na⁺, K⁺-АТР-ази У МЕМБРАНАХ НЕРВОВИХ КЛІТИН СПІВРОБІТНИКАМИ ВІДДІЛУ БІОХІМІЇ НЕРВОВОЇ СИСТЕМИ ІНСТИТУТУ БІОХІМІЇ ім. О. В. ПАЛЛАДИНА НАН УКРАЇНИ (1960–2000 рр.)

Серед численних протеїнів нервової тканини особливу увагу привертають ті, які найтісніше пов'язані з основною функцією клітини – генерацією і передачею нервових імпульсів. Такі протеїни розміщені у клітинній мембрані і, як правило, є ензимами. У біологічній мембрані всі компоненти розташовані певним чином і тільки одночасна їхня взаємодія дає можливість виконувати свої функції. Робота цих ензимних систем є багатостадійним процесом з утворенням проміжних продуктів та конформаційними перебудовами протеїнів. До таких ензимів належать протеїни АТР-азної системи, а саме Na⁺,K⁺-АТР-ази.

Дослідження механізмів активного транспорту іонів через біологічні мембрани нервової клітини є однією з основних проблем мембранної біології і біоенергетики взагалі та нейрохімії, зокрема. Серед іонних насосів найбільшу увагу привертають Na⁺- та K⁺-транспортувальні структури, які підтримують іонний гомеостаз клітини та відіграють важливу роль у специфічній діяльності нервової системи.

Дослідження АТР-ази мозку розпочалися в лабораторії біохімії нервової системи Інституту біохімії ще в 40–50-ті роки ХХ ст. Вагомим внеском у розв'язання цієї проблеми були роботи **Ц. М. Штутман**, яка ще у 1947 р.



Відділ біохімії нервової системи, 1970 р. 1-й ряд, зліва направо: О. В. Кірсенко, Н. М. Полякова, О. В. Палладін, Я. В. Белік, С. О. Кудінов; 2-й ряд, зліва направо: К. О. Гончарова, П. О. Гончарова, Г. М. Чугай, В. І. Зуєва, В. Й. Кочерга, Т. І. Гревізирська, Т. В. Чигньова (Т. В. Гриненко), В. І. Назаренко; 3-й ряд, зліва направо: П. К. Пархомець, Я. Т. Терлецька, Н. К. Крися (Н. К. Харченко), Л. С. Смерчинська, І. О. Трикаш, С. М. Фліс, О. Г. Гриненко, Г. Л. Вавілова, В. М. Лахтадир, В. М. Коваленко, О. П. Готовцева, А. Ліманцев, М. Г. Сметана

захистила кандидатську дисертацію на тему: «Аденозинтрифосфатаза мозку».

У 60-і роки у відділі біохімії нервової системи розпочалися дослідження АТР-ази в різних клітинних елементах головного мозку. І першою серед цих досліджень була робота **О. В. Палладіна** разом з **О. В. Кірсенко** (1961 р.), в якій методом диференційного центрифугування було одержано внутрішньоклітинні фракції головного мозку кролів: ядра, мітохондрії, мікросоми та розчинна (надосадова) фракція. Виявилось, що за вмістом протеїну на першому місці знаходяться мітохондрії, приблизно така сама кількість його міститься у розчинній фракції; але в ядрах вміст протеїну майже у три рази менше і ще менше його – в мікросомах порівняно з мітохондріями. Активність АТР-ази виявлено в усіх досліджених внутрішньоклітинних фракціях головного мозку. Вона розподіляється у порядку зменшення активності АТР-ази таким чином: мітохондрії > мікросоми > ядра; в розчинній фракції АТР-азна активність виявилася дуже низькою. Іони кальцію не впливають на активність АТР-ази мітохондрій та розчинної фракції, але активують АТР-азу ядер і особливо мікросом. Іони магнію активують АТР-азу всіх клітинних структур головного мозку, що було відмічено ще **Ц. М. Штутман** (1948 р.). *Різний вплив двовалентних катіонів може свідчити про наявність різних АТР-аз або АТР-аз із різними властивостями.*

О. В. Кірсенко (1962 р.), а також **О. В. Кірсенко**, **О. В. Палладін**, **О. М. Рожманова** і **С. С. Ейсмонт** (1963 р.) досліджували активність АТР-ази в гомогенаті, ядрах, мітохондріях, мікросомах, промивній та надосадовій рідині білої і сірої речовини півкуль головного мозку, мозочку, середньому, довгастому, спинному мозку і сідничному нерві кролів і котів. Виявилось, що активність АТР-ази всіх досліджених внутрішньоклітинних структур, крім мікросом, у білій речовині півкуль та спинному мозку нижча, ніж у сірій речовині півкуль, мозочку, середньому і довгастому мозку. Такий самий розподіл активності ензиму спостерігався в гомогенатах до фракціювання. В мікросомній фракції з білої речовини півкуль і сідничного нерва активність АТР-ази помітно вища, ніж у мітохондріальній та мікросомній фракції із сірої речовини. Встановлено, що Mg^{2+} -АТР-аза ядер не чутлива до іонів Na і K, а активність цього ензиму з мікросом і мітохондрій підвищується у присутності іонів Na і практично не змінюється у присутності іонів K. *Одержані дані свідчили про те, що в різних*



С. О. Кудінов, О. М. Федоров. В Всесоюзна конференція з нейрохімії. Тбілісі, 1968 р.

клітинних фракціях головного мозку і навіть в межах однієї фракції існують АТР-ази, які виявляють різні властивості, що і було підтверджено подальшими дослідженнями.

У 60-і роки у відділі, крім АТР-ази, досліджували активність й інших ензимів нервової системи. Так, **О. М. Федоровим** і **О. В. Палладіним** (1963 р.) досліджено розподіл пірофосфатази між субклітинними фракціями різних відділів нервової системи кролів, а також вивчено оптимальні умови дії цього ензиму.

У 1964 р. **О. М. Федоров** захистив кандидатську дисертацію на тему: «Исследование пирофосфатазы нервной системы» (науковий керівник акад. **О. В. Палладін**).

В цій роботі було показано, що в процесі онтогенетичного розвитку кролів активність пірофосфатази головного мозку змінюється. В ембріонів вона майже в 2 рази вища, ніж у дорослих кролів, а перед народженням знижується до рівня в останніх. У постнатальний період активність пірофосфатази головного мозку підвищується, але вже у віці до одного місяця життя стає такою самою, як і у дорослих шурів, залишаючись на стабільному рівні до їхньої старості. Активність пірофосфатази в мітохондріальній, мікросомній і цитоплазматичній фракціях мозку ембріонів і новонароджених в 1,5–2 рази вища порівняно з такою аналогічних фракцій мозку дорослих тварин.

Вивчення активності неорганічної пірофосфатази в головному мозку кролів у нормі та за голодування проводив **В. І. Тюленев** (1967 р.). Він встановив, що активність цього ензиму за голодування тварин протягом 13–16 днів практично не змінюється. Май-

же 80% активності пірофосфатази виявлено у фракції розчинних протеїнів, а решта ензиму міцно пов'язана зі структурними компонентами клітин.

В. І. Тюленев і Я. В. Белік (1967 р.) досліджували активність неорганічної пірофосфатази в гомогенаті, розчинній цитоплазматичній фракції та структурних компонентах клітин головного мозку ховрахів під час неспання, сплячки та штучного пробудження. Ці ж автори провели порівняльне дослідження активності неорганічної пірофосфатази головного мозку кролів і ховрахів. Виявлено, що активність цього ензиму в усіх субклітинних фракціях ховрахів значно вища, ніж у кролів.

Одержані дані представлено в кандидатській дисертації **В. І. Тюленева** (1968 р.) «*Сравнительное исследование неорганической пирофосфатазы мозга*» (наукові керівники акад. О. В. Палладін і к. б. н., ст. н. співр. Я. В. Белік).

Дослідження розподілу низки ензимів азотистого і вуглеводно-фосфорного обміну між окремими внутрішньоклітинними структурами, проведені у відділі біохімії нервової системи, показали, що дезаміназа аденозину (**О. В. Палладін, Н. М. Полякова, О. В. Кірсенко**, 1961 р.; **Н. М. Полякова, М. К. Малишева**, 1961 р.), АТР-аза (**О. В. Палладін, О. В. Кірсенко**, 1961, 1962 рр.), фосфоглюкомутаза (**Н. М. Полякова, Н. А. Унгіна**, 1961 р.) в основному знаходяться в розчинній цитоплазматичній фракції, а протеїназа (**Н. М. Полякова, Я. В. Белік, Л. А. Царюк**, 1960 р.) і глутаміназа (**О. В. Палладін, Н. М. Полякова, М. К. Малишева**, 1960 р.) локалізовані в мітохондріях.

Під час дослідження активності АТР-ази важливо враховувати інформацію про вміст АТР у тканинах. Це непросте питання вирішив **М. Д. Курський** (1963 р.), застосувавши метод двовимірної хроматографії на папері для визначення вмісту АТР і продуктів його обміну в головному мозку шурів і кролів та його функціональних відділах – великих півкулях і мозочку. Виявилось, що у великих півкулях головного мозку шурів вміст креатинфосфату і неорганічного фосфату, АТР і похідного гуаніну вищий, ніж у мозочку.

М. К. Малишева і Н. М. Полякова (1965 р.) досліджували дезамінування аденілової кислоти в клітинних компонентах великих півкуль головного мозку кролів, а саме: ядрах, мітохондріях, мікросомах і в розчинній фракції. Виявилось, що дезаміназа аденілової кислоти, яка активується АТР,

міститься в усіх клітинних фракціях головного мозку кролів, але найбільше її локалізовано в розчинній фракції. Активність цієї дезамінази виявляється лише за наявності іонів натрію або калію. В розчинній фракції дезаміназа активна і за відсутності одновалентних катіонів, але іони калію і, особливо, натрію значною мірою активують цей ензим. Того самого року **М. К. Малишева** (1965 р.) очистила дезаміназу аденілової кислоти з екстракту ацетонового порошку головного мозку великої рогатої худоби в 17 разів за допомогою висолювання сульфатом амонію та хроматографією на сефадексі Г-200. Очищений ензим слабо дезамінував аденілову кислоту за відсутності АТР, іони натрію і калію були його активаторами, а неорганічний фосфат – інгібітором.

Результати експериментальної роботи були узагальнені в 1965 р. **М. К. Малишевою** в кандидатській дисертації «*Изучение дезаминирования адениловой кислоты*» (науковий керівник докт. біол. наук Н. М. Полякова).

Висновок, який зроблено в результаті цієї роботи, свідчить про те, що дезаміназа аденілової кислоти, як і багато інших ензимів, для яких була показана залежність активності від вмісту Na^+ і K^+ , не бере участі в перенесенні іонів через клітинні мембрани.

У травні 1964 р. Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця АН УРСР разом з об'єднаною науковою радою з проблеми «Фізіологія» провели симпозіум «Протоплазматичні мембрани і їх функціональна роль», на якому з доповіддю «О связи аденозинтрифосфорной активности с процессами катионного транспорта» виступила **О. В. Кірсенко**. На I Українському біохімічному з'їзді (Чернівці, 1965 р.) також було заслухано її доповідь «Про вплив іонів натрію та калію на аденозинтрифосфатазну активність нервової тканини». В цих роботах **О. В. Кірсенко** навела докази існування зв'язку між активністю АТР-ази та катіонним транспортом. Підсумовуючи ці дані, вона підкреслила, що АТР-азу не можна вважати індивідуальним ензимом, вигодніше припустити, що існує система ензимів із кінцевим АТР-азним ефектом. Важливим фактом є фосфорилування певних компонентів цієї системи і сам процес, стимульований іонами натрію, веде до вибіркового зв'язування натрію і виведенню його назовні. Саме з'ясування механізмів переміщення іонів натрію (натрієвого насоса) стає першочерговим завданням під час дослідження зв'язку між активністю АТР-ази тканин та катіонного транспорту.



О. В. Кірсенко, Г. Л. Вавілова в лабораторії. Київ, 60-ті роки

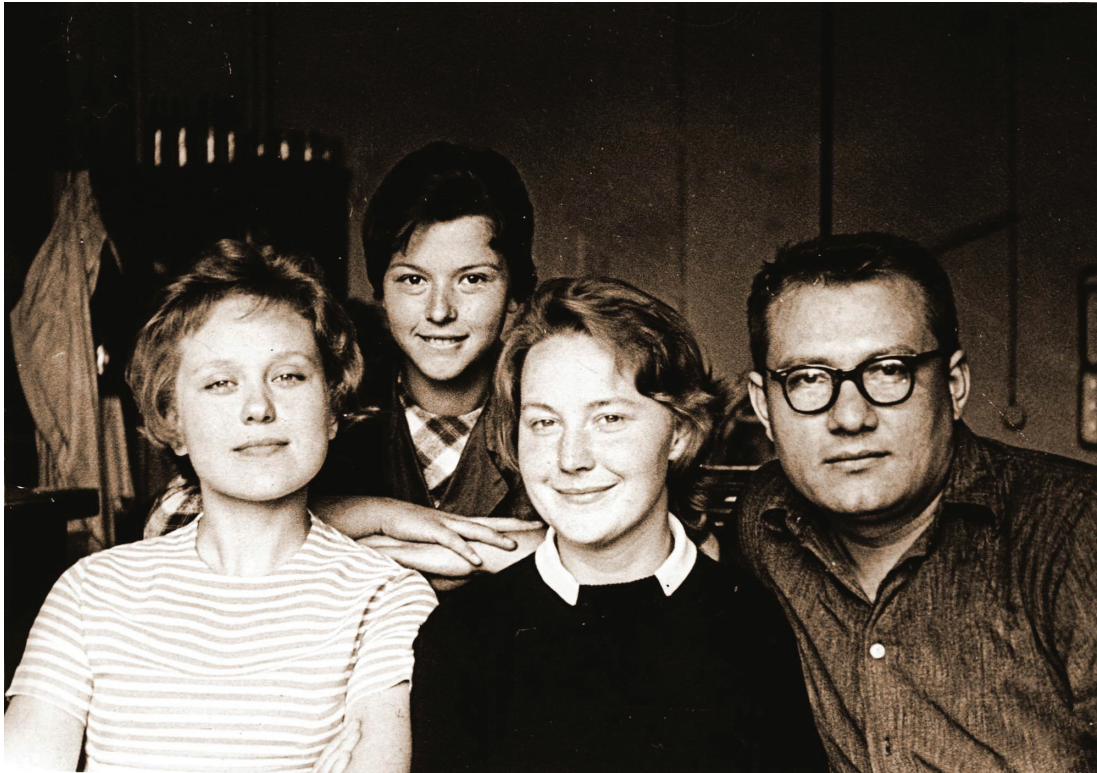
Дані літератури того часу вказували на те, що перенесення іонів (таких, як Na^+ , K^+) крізь клітинну мембрану відбувається з використанням енергії γ -фосфатного зв'язку АТР. З метою ідентифікації ензиму серед великої кількості АТР-аз необхідно було шукати таку, активність якої корелювала би з роботою «натрієвого насоса». І такий ензим мав би адекватно реагувати на присутність іонів Na^+ і K^+ , а також на дію убаїну та інших інгібіторів іонного транспорту. Вперше таку АТР-азу, що активується іонами Na^+ і K^+ та інгібується убаїном, було виявлено у 1957 р. Дж. Скоу (J. C. Skou) в мембранній фракції нерва краба. Факт активації Na^+ , K^+ -АТР-ази одновалентними катіонами, сам по собі, не свідчить про її участь у транслокації іонів крізь клітинні мембрани. Для того, щоб підтвердити участь Na^+ , K^+ -АТР-ази в активному перенесенні іонів крізь клітинні мембрани, необхідно було провести всебічне дослідження цієї ензимної системи.

Піонером у розробці цих питань не тільки в Україні, але й в усьому Радянському Союзі була **О. В. Кірсенко**, яку В. В. Ткачук, (тепер академік Російської Академії наук) жартома назвав «наш Радянський Скоу». Але в цьому жарті була велика доля правди.

У подальшому цей напрям розвинули учні **О. В. Палладіна** та **О. В. Кірсенко**: **О. М. Рожманова**, **Г. Л. Вавілова**, **О. В. Кравцов**, **В. В. Кравцова**. Так, **О. М. Рожманова** (1966 р.)

дослідила АТР-азну активність аксонів — провідних елементів нервової клітини. Об'єктом дослідження були сідничні нерви кролів, котів, собак та зоровий нерв котів. Активність АТР-ази вивчали в проксимальній та дистальній частинах нерва. Порівняльне дослідження зорового та сідничного нервів котів показало, що активність АТР-ази в гомогенаті та субклітинних фракціях зорового нерва значно вища, ніж у сідничному нерві. Активність АТР-ази сідничного нерва в собак і котів значно нижча, ніж у кролів, а у фракції з дистальної частини нерва вища, ніж із проксимальної.

О. М. Рожманова, **О. В. Палладін** (1966 р.) встановили, що в дистальній частині сідничного нерва, який регенерував після перерізки, активність АТР-ази зростає, досягаючи максимуму на 60–90 день, а після валлерівської дегенерації (кінці перерезаних нервів пришивались до м'язів, що лежать над ним) вже на 32-й день. Біохімічні і гістохімічні дослідження дають можливість вважати, що така висока активність АТР-ази в дистальній частині дегенеруючих і регенеруючих периферійних нервів обумовлена проліферацією шваннівських клітин. Дані про активність АТР-ази в нормальному, регенеруючому та дегенеруючому сідничному нерві kota, одержані гістохімічним методом, збігаються з біохімічними дослідженнями активності цього ензиму.



*Наукові співробітники відділу біохімії нервової системи (1-й ряд):
С. С. Ейсмонт, О. М. Рожманова, О. М. Федоров. Київ, 1962 р.*



Г. Л. Вавилова, О. В. Кірсенко, С. М. Фліс. Київ, 1967 р.

Одержані дані було узагальнено в кандидатській дисертації **О. М. Рожманової**, яку вона захистила у 1966 р. «*Аденозинтрифосфатазна активність нерва*» (науковий керівник акад. **О. В. Палладін**).

Після перших робіт **Дж. Скоу (Skou J., 1957, 1960 pp.)** не залишилось сумнівів, що Na^+ , K^+ -АТФ-аза бере участь у перенесенні іонів натрію і калію крізь плазматичні мембрани. Але на той час було невідомо, яким чином ця ензиматична система віддає енергію іонному «наосу», об'єднуючи розщеплення АТФ із транспортуванням катіонів. Саме на дослідження цих питань були спрямовані роботи співробітників відділу біохімії нервової системи Інституту.

Вплив детергентів на солюбілізацію і активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази вивчали **О. В. Палладін, О. В. Кірсенко, Г. Л. Вавілова (1970, 1972 pp.)** в субклітинних фракціях мозку кролів і великої рогатої худоби. Транспортну АТФ-азу приблизно однакової активності було виявлено у фракції мікросом нервових закінчень і мієліну. В останній фракції вона, перш за все, зв'язана не з мієліном, а із зовнішньою клітинною мембраною, тому що неіонний детергент *третон X-100* екстрагує активну АТФ-азу з цієї фракції та з мікросом, а в екстрактах із фракції нервових закінчень і мітохондрій активність цього ензиму не виявлена. Виділити активну транспортну АТФ-азу, використовуючи *дезоксихолат*, не вдалося ні з жодної з досліджених фракцій. Зроблено припущення про те, що, можливо, низький вміст фосфоліпідів у дезоксихолатних екстрактах і є причиною відсутності прояву в них активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази, оскільки у структурі мембран разом із протеїнами істотну структурну роль відіграють ліпіди і, особливо, фосфоліпіди (**О. В. Кірсенко, Г. Л. Вавілова, 1971, 1972 pp.**).

З метою вивчення механізму дії будь-якого ензимного препарату, передусім, необхідно одержати його в чистому вигляді як індивідуальний ензим. Це є складним завданням взагалі і, особливо, у разі виділення Na^+ , K^+ -АТФ-ази, яка входить до складу мембран клітинних структур і є багатокомпонентною ензиматичною системою. Повна взаємодія між розщепленням АТФ і просторовим переміщенням іонів можлива тільки за умови суворої впорядкованості всіх компонентів цієї системи в мембрані. Тому під час виділення та очищення цього ензиму можлива втрата його специфічної активності через розупорядкування частин цього складного комплексу. Видалення із мікросом, крім фосфоліпідів,

ще і значної кількості протеїнів також суттєво впливає на поведінку Na^+ , K^+ -АТФ-ази (**О. В. Кірсенко, Г. Л. Вавілова, 1971 p.**).

О. В. Кірсенко, П. О. Демченко, Г. Л. Вавілова, Н. А. Ярошенко, О. В. Кравцов (1974 p.) досліджували вплив поверхнево-активних речовин (ПАР) на сумарну активність Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-ази та її складових, окремо Mg^{2+} -АТФ-ази і Mg^{2+} -залежної Na^+ , K^+ -АТФ-ази субклітинних фракцій мозку кролів та сірої речовини півкуль головного мозку великої рогатої худоби. Справа в тому, що ПАР широко застосовують для вивчення складної будови біологічних мембран. Завдяки асиметричній будові цих молекул і добре вираженій гідрофобності вони здатні взаємодіяти з гідрофобними компонентами мембран та спричинювати зміни, які допомагають розшифровувати значення тих чи інших зв'язків або компонентів мембран. Транспортна Na^+ , K^+ -АТФ-аза знаходиться в мембранах і її дія залежить від цілісності мембран. Автори встановили, що за певних концентрацій іонні та неіонні ПАР зумовлюють підвищення активності цієї системи. Для активації ензиму в синаптосомах потрібна менша кількість ПАР, ніж для мікросомної та мієлінової фракцій. Ступінь активації найвищий у мікросомній фракції і найменший – у синаптосомах. Концентрація кожної ПАР, що спричиняє максимальну активацію, майже однакова для трьох досліджених ензимів. ПАР активують ензими в концентраціях, набагато нижчих від критичної концентрації міцелоутворення (ККМ) ПАР, тобто не в міцелярному, а в молекулярно-дисперсному стані. Спостерігається взаємний вплив ПАР і суспензії мембран; при взаємодії мембранних структур мозку з різними за хімічною будовою ПАР можуть відбуватись як синергічні, так і антагоністичні процеси.

Під час дослідження впливу трьох гомологічних рядів аніонних і катіонних ПАР на активність Mg^{2+} -залежної Na^+ , K^+ -АТФ-ази мікросомної фракції мозку встановлено, що катіонні ПАР, на відміну від аніонних, не активують цю ензиматичну систему (**Н. А. Ярошенко, Г. Л. Вавілова, 1974 p.**). Показано, що здатність до активації в аніонних ПАР зростає зі збільшенням довжини вуглеводневого радикала $\text{C}_4\text{—C}_{15}$. Зменшення значень ККМ спостерігається тільки для низькомолекулярних гомологів алкілсульфатів, що пояснюється особливістю їхніх міцелярних структур. Зроблено висновок про існування специфіки внутрішньомембранної організації

Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТР-азного комплексу в різних субклітинних структурах (О. В. Кірсенко, Г. Л. Вавілова, Н. А. Ярошенко, 1974 р.).

Наведені експериментальні дані було узагальнено Г. Л. Вавіловою в кандидатській дисертації «Изучение взаимодействия детергентов с Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-азой мембранных структур мозга», яка була захищена у 1974 р. (наукові керівники – академік О. В. Палладін та к.б.н. О. В. Кірсенко).

З метою одержання в розчинному стані Mg^{2+} -залежної, Na^+ , K^+ -АТР-ази О. В. Кравцов, О. В. Кірсенко (1974 р.) дослідили солюбілізуючу дію неіонних детергентів – тритону X-100 та дигітоніну на різні субклітинні мембранні структури сірої речовини півкуль головного мозку великої рогатої худоби. Виявилось, що, застосовуючи детергенти, можна виділити з мембранных структур мозку Na^+ , K^+ -АТР-азу з питомою активністю, що перевищує їхню питому активність у вихідних фракціях. Дигітонін ефективніше, ніж тритон X-100, екстрагує цю ензимну систему. Виявлено деякі відмінності в екстрагуванні ензиму з різних мембранных структур. Автори вважають, що, використовуючи неіонні детергенти, можна виділити Na^+ , K^+ -АТР-азу з мембранных структур як «функціонально інтактну одиницю».

О. В. Кравцов, О. В. Кірсенко (1975 р.) дослідили деякі властивості такої «розчинної» Na^+ , K^+ -АТР-ази, одержаної з різних субклітинних мембранных структур мозку у разі обробки їх тритоном X-100 і дигітоніном (неіонними детергентами). Виявилось, що рН і температурний оптимуми одержаного в такий спосіб ензиму майже не відрізняються від таких ензиму, одержаного з нефрагментованих детергентами мембран. Екстракти, одержані за участю дигітоніну були стабільніші під час зберігання.

У 1974 р. О. В. Кравцов захистив кандидатську дисертацію «Выделение и сравнительное изучение Mg^{2+} -зависимой, Na^+ , K^+ -активируемой АТФ-ази из различных структур мембран мозга», в якій узагальнив попередньо одержані експериментальні дані (науковими керівниками були академік О. В. Палладін і канд. біол. наук О. В. Кірсенко).

З метою деструкції клітин і їхніх внутрішньоклітинних структур, а також з метою виділення з них складових компонентів у відділі в той час проводились дослідження з використанням ультразвуку. Крім механічної деградації мембран ультразвук може спричинювати зміни просторової організації субклітинних часток та їхні функції.

Дослідження впливу ультразвуку на активність АТР-ази та ацетилфосфатази субклітинних фракцій головного мозку кролів і великої рогатої худоби показало, що після коротко-часового впливу ультразвуку активність обох ензимів зберігалась (В. В. Чупира (Кравцова), О. В. Кірсенко, 1974 р.). Ефект ультразвукової дії залежав від вихідного стану мембран (обробка NaI, дигітоніном).

На той час було відомо, що для активності АТР-ази суттєвим є стан SH-груп Mg^{2+} -залежної, Na^+ , K^+ -АТР-ази. Виявилось, що після дії ультразвуку на оброблені ЕДТА мікросоми спостерігалась також активація ацетилфосфатази. Максимум активації ацетилфосфатази завжди збігався за дії ультразвуку з максимумом активації Mg^{2+} -залежної, Na^+ , K^+ -АТР-ази. Автори припускають, що K^+ -фосфатазний центр Na^+ , K^+ -АТР-азного ензимного комплексу стійкіший до деструкції мембран порівняно з АТР-фосфогідролазним. Під впливом ультразвуку зменшується кількість легкодоступних SH-груп у субклітинних структурах. Проте озвучування оброблених ЕДТА фракцій призводить до зростання кількості SH-груп у всіх фракціях (мікросомній, мієліновій, синаптосомній), крім мітохондрій (О. В. Кірсенко, В. В. Чупира, 1975 р.).

Питанню виділення Na^+ , K^+ -АТР-ази з мембранных структур клітин у функціонально активному стані присвячено огляд О. В. Кравцова «Выделение Na^+ , K^+ -АТФ-ази» (Укр. біохім. журн. т. 48, № 6, 1976 р.). В ньому порівнюються різні методичні підходи, які дають можливість виділити цей ензим з мембранных структур. Відмічено, що за участю деяких неіонних детергентів можна одержати препарати «розчинної» Na^+ , K^+ -АТР-ази, які в подальшому очищують і одержують її «функціонально активну одиницю» з метою використання у дослідженнях при розшифруванні молекулярного механізму транспортування іонів натрію та калію крізь біомембрани, в тому числі і нервової тканини.

Одержанню високоактивних препаратів «розчинної» Na^+ , K^+ -АТР-ази з різних мембранных структур сірої речовини великих півкуль головного мозку великої рогатої худоби (мієліну, мікросом і синаптосом) була присвячена робота О. В. Кірсенко та О. В. Кравцова (1977 р.). Визначення чистоти препаратів, виділених послідовною обробкою азидом натрію і дигітоніном, методами ультрацентрифугування та диск-електрофорезу показало, що гетерогенність препаратів ензиму незначна. Одержані авторами дані дають підставу розглядати препарати «розчинної» Na^+ , K^+ -

АТР-ази як задовільний вихідний матеріал для подальшого очищення цієї ензимної системи.

У 1978 р. **О. В. Кравцов**, вивчаючи властивості солюбілізованої Na^+ , K^+ -АТР-ази після обробки фракції мікросом мозку бика 0,2%-им розчином дигітоніну, показав, що за основними кінетичними параметрами солюбілізований ензим суттєво не відрізняється від мембранозв'язаного.

Вплив поверхнево-активних речовин — аніонних (дезоксихолату натрію та додецилсульфату натрію) і неіонних (тритону X-100 і дигітоніну) на активність K^+ -ацетилфосфатази і K^+ -*p*-нітрофенілфосфатази у фракції мікросом з кори великих півкуль мозку бика вивчали **В. В. Кравцова** і **О. В. Кірсенко** (1978 р.). Знайдено максимально активуючі концентрації цих речовин для досліджених ензимів, які подібні для Na^+ , K^+ -АТР-ази. За характером дії на активність K^+ -фосфатази і Na^+ , K^+ -АТР-ази досліджені речовини компонуються не за іоногенною ознакою, а за просторовою конфігурацією молекул. Автори вважають, що активуюча дія поверхнево-активних речовин обумовлена збільшенням кількості функціонуючих каталітичних ділянок, а не підвищенням їхньої активності, бо K_m для субстратів після їхньої дії не змінюється. Так, дигітонін у високих концентраціях повністю інгібує активність Na^+ , K^+ -АТР-ази і певною мірою зберігає активність K^+ -ацетилфосфатази. Одержані дані дають

можливість вважати, що K^+ -фосфатазний центр Na^+ , K^+ -АТР-азного комплексу, мабуть, стійкіший до деструкції мембран порівняно з АТР — фосфогідролазним комплексом у цілому (1979 р.).

В. В. Кравцова, **О. В. Кірсенко** (1978 р.) також досліджували умови солюбілізації K^+ -фосфатази із фракції мікросом, мієліну і синапсом сірої речовини мозку.

У 1979 р. **В. В. Кравцова** (Чупира) захистила кандидатську дисертацію « K^+ -зависимая фосфатаза ткани мозга: солюбилизация, свойства и связь с Na^+ , K^+ -АТР-азним комплексом» (наукові керівники — д.б.н. Я. В. Белік, к.б.н. О. В. Кірсенко).

У 70-ті роки до вивчення механізму дії Na^+ , K^+ -АТР-ази підключився **В. К. Лішко**. На той час із джерел літератури було відомо, що за дії Na^+ - K^+ -активованої АТР-ази утворюється проміжне фосфорильоване похідне внаслідок перенесення γ -фосфату АТР на акцептор в активному центрі ензиматичної системи. На другій стадії реакції відбувається активоване іонами калію дефосфорильовання цього проміжного продукту з вивільненням PO_4^{3-} . Це похідне є ацилфосфатом, а акцептором фосфату є γ -карбоксил глутамінової кислоти протеїнів. Дослідження деяких авторів показали, що карбодііміди легко і специфічно взаємодіють із вільними карбоксильними групами протеїнів.



В. К. Лішко, З. В. Проніна, О. В. Кірсенко, С. М. Фліс, Л. С. Смерчинська. Київ, 1967 р.

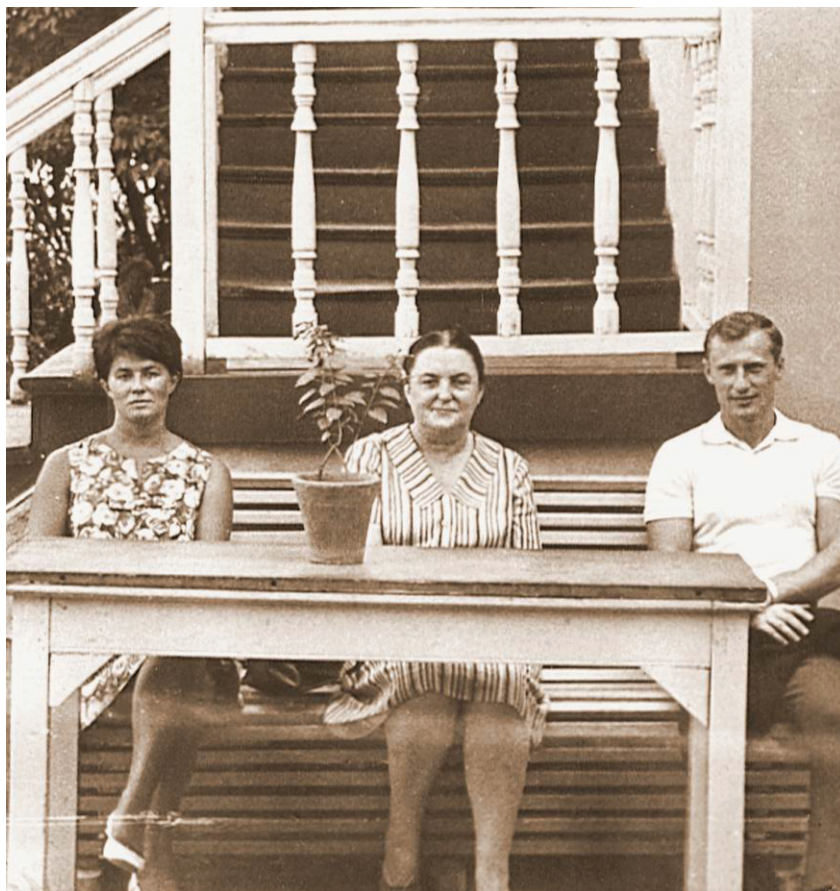
О. В. Палладін, В. К. Лішко, М. Г. Сметана (1969 р.) виявили, що дициклогексилкарбодіімід (ДЦКД), взаємодіючи з Na^+ , K^+ -АТР-азною системою мікросомної фракції мозку великої рогатої худоби, незворотно інгібує її. Інактивація ефективна в тій зоні рН, де відбувається модифікація вільних карбоксильних груп протеїнів.

Подальше дослідження взаємодії Na^+ , K^+ -АТР-ази мозку тварин з ДЦКД і водорозчинним *n*-толуолсульфонат-циклогексил- β -[*N*-(*N*-метилморфолініл)-етилкарбодіімідом (МЦКД) показало, що інгібування ензиматичної активності ДЦКД підвищується зі зниженням рН і в присутності нуклеофільного агента (гідроксиламіну). Це дало можливість **В. К. Лішку, Л. І. Колчинській, Н. Г. Сметані** (1972 р.) вважати, що ДЦКД модифікує карбоксильні групи ензиму, які опосередковано або безпосередньо беруть участь в Na^+ , K^+ -АТР-азній реакції. За обробки ензиму ДЦКД паралельно із гальмуванням активності Na^+ , K^+ -АТР-ази знижувалися Na^+ -залежне включення ^{32}P в ензим і активність K^+ -

ацетилфосфатази. Іони натрію захищають ензим від інактивації. Mg^{2+} -АТР-аза мікросомної фракції мозку також інактивувалася ДЦКД, але величина інгібування не залежала від рН середовища і концентрації натрію. Було показано, що гальмування Na^+ , K^+ -АТР-ази ДЦКД було необоротним, в той час як водорозчинний карбодіімід (МЦКД) виявився зворотним інгібітором. *Автори вважають, що одержаний експериментальний матеріал свідчить про складну взаємодію мембранних АТР-аз з карбодіімідами.*

Дослідження **В. К. Лішка** (1969 р.) стосовно взаємозв'язку між активністю Na^+ , K^+ -АТР-ази і K^+ -ацетилфосфатази в мікросомах виявило, що неорганічний фосфат також може включатися в препарати Na^+ , K^+ -АТР-ази мозку великої рогатої худоби. Автором зроблено припущення, що остання стадія аденозинтрифосфатазної реакції, можливо, є зворотним фосфатазним процесом.

В. К. Лішко, М. К. Малишева, Н. М. Полякова (1969 р.) досліджували конформаційні зміни комплексу, зв'язаного з Na^+ , K^+ -АТР-



*М. К. Малишева, Н. М. Полякова, В. К. Лішко.
У Всесоюзна конференція з нейрохімії. Тбілісі, 1968 р.*

азною активністю, і показали, що певна частина Mg^{2+} -АТР-азної дії здійснюється активними центрами Na^+ , K^+ -АТР-ази, але без конформаційних змін.

Для пояснення механізму активного іонного транспорту на той час різними авторами було запропоновано багато гіпотез, які передбачали структурні зміни в ензиматичному апараті «натрієвої помпи». Але залишалося, по-перше, експериментально довести наявність таких структурних перетворень, а по-друге (і це є головним), – узгодити їх із процесом перенесення іонів і з відповідними ензиматичними реакціями. В той самий час із джерел літератури було відомо, що на першій стадії Na^+ , K^+ -АТР-азної реакції γ -фосфат АТР переноситься на γ -карбоксылну групу залишку глутамінової кислоти протеїну. Остання стадія перенесення, що потребує наявності K^+ , полягає в розщепленні утвореного проміжного фосфорильованого продукту за участю фосфатази. Вважали, що глікозид убаїн (строфантин), який є специфічним інгібітором активного іонного транспорту Na^+ , K^+ -АТР-ази, інгібує саме процес дефосфорилування. В той же час було показано, що інгібування цього ензиму убаїном супроводжується адсорбцією глікозиду на препаратах ензиму.

Вплив *ацетилфосфату* (АцР) і *неорганічного фосфату* на взаємодію Na^+ , K^+ -АТР-ази мікросом сірої речовини мозку великої рогатої худоби з убаїном вивчали **М. К. Малишева, В. К. Лішко** і **Н. М. Полякова** (1970 р.). Вони показали, що в системі, де знаходиться Mg^{2+} , ці агенти стимулюють інгібування активності Na^+ , K^+ -АТР-ази убаїном. Іони натрію підвищують швидкість інгібування ензиму в присутності АцР, але знижують її в присутності неорганічного фосфату. Іони калію знижують швидкість інгібування в обох випадках. У взаємодії убаїну з Na^+ , K^+ -АТР-азною системою, яка призводить до утворення неактивної форми ензиму, спостерігається висока енергія активації. Активність ензиму після обробки убаїном у присутності АцР може в значній мірі відновитися. Цей ефект не виявляється у разі інгібування ензиму в присутності неорганічного фосфату.

Дослідження **В. К. Лішка, М. К. Малишевої, Н. М. Полякової** (1971 р.) з вивчення взаємодії убаїну з Na^+ , K^+ -АТР-азою, яка була виділена з мозку великої рогатої худоби, показало, що інгібування ензиму глікозидом найефективніше в умовах утворення проміжного фосфорильованого продукту за використання АТР і ацетилфосфату як донорів

фосфатних груп. В обох випадках взаємодія ензиму із глікозидом оборотна, вона відбувається з великою швидкістю і має високу енергію активації, що свідчить про конформаційні зміни ензиму. *Одержані дані дали можливість запропонувати такий механізм інгібування транспортної АТР-ази убаїном: утворення проміжного фосфорильованого похідного \rightarrow конформаційний перехід \rightarrow зв'язування убаїну і стабілізація утвореної структури. Таким чином, авторами був запропонований механізм дії Na^+ , K^+ -АТР-ази через утворення проміжних продуктів і стадію конформаційних змін ензиму.*

В. І. Назаренко, О. В. Палладін, В. К. Лішко (1972 р.), досліджуючи вплив одновалентних катіонів на гальмування убаїном активності фосфорильованої форми Na^+ , K^+ -АТР-ази мозку встановили, що неорганічний фосфат може включатися в активні центри Na^+ , K^+ -АТР-ази і що ацетилфосфатаза є частиною цього транспортного механізму. Автори визначили кінетичні параметри гальмування ензиму убаїном і ацетилфосфатазної стадії, які мали приблизно ті самі показники. *Одержані ними результати свідчать про те, що зв'язуванню Na^+ , K^+ -АТР-ази з убаїном сприяє фосфорильована форма ензиму.*

Досліджуючи вплив фосфорилуючих агентів на гальмування Na^+ , K^+ -АТР-ази убаїном **В. К. Лішко, В. І. Назаренко, Т. П. Угарова** (1972 р.) також показали, що під час утворення проміжного фосфорильованого похідного в присутності АТР, ІТР, ацетилфосфату або ортофосфату спостерігається кореляція між фосфорилуванням АТР-ази та гальмуванням її активності убаїном. *Зроблено висновок про те, що фосфорилування АТР-азного комплексу сприяє утворенню убаїнчутливої форми ензиму.*

Досліджуючи механізми взаємодії Na^+ , K^+ -АТР-ази з убаїном, **В. К. Лішко, М. К. Малишева, Н. М. Полякова** (1970 р.) виявили утворення неактивної форми ензиму з високою енергією активації, що свідчило про конформаційні зміни у структурі «іонної помпи». Це було підтверджено дослідженням температурної залежності швидкості активації Na^+ , K^+ -АТР-азної активності після інгібування убаїном.

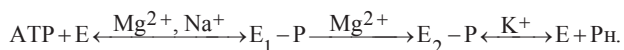
Результати вивчення Na^+ , K^+ -АТР-ази мозку, одержані у відділі біохімії нервової системи Інституту біохімії, було покладено в основу докторської дисертації **В. К. Лішка** «Своєства і механізм действия» Na^+ , K^+ -АТР-азы», яка була захищена за спеціальністю 03.00.17 (цитологія) у 1975 р. в Інституті цитології АН СРСР (Ленінград).

Під час дослідження фізико-хімічних і біологічних властивостей Na^+ , K^+ -АТФ-ази на той час був накопичений великий експериментальний матеріал, який став основою для численних гіпотез та ініціював нові експерименти з метою висвітлення тонкої молекулярної організації, розшифрування механізму дії та повнішого розуміння функціональної ролі «натрієвого насосу» в різних органах. Для вирішення цих завдань важливо було виділити Na^+ , K^+ -АТФ-азу, детально дослідити її фізико-хімічні властивості та з'ясувати, яким чином ензиматичний процес розщеплення АТФ обумовлює переміщення іонів проти електрохімічного градієнта. Саме ці питання і були покладені в основу докторської дисертації **В. К. Лішка**.

А основні висновки з цієї роботи можна викласти наступним чином:

Автором запропоновано використовувати дициклогексил-карбодіімід (ДЦКД) як новий інгібітор транспортної АТФ-ази, що модифікує карбоксильні групи Na^+ , K^+ -АТФ-азної системи, які необхідні для її функціонування. Одержані ним результати свідчать про участь K^+ -ацетилфосфатази у функціонуванні транспортувальної системи. При дослідженні взаємодії транспортної АТФ-ази з убаїном у присутності ортофосфату, ацетилфосфату, АТФ та інших фосфоровмісних речовин виявлено, що в процесі дії ензиму має місце фосфорилування активних центрів Na^+ , K^+ -АТФ-ази. Остання, фосфатазна стадія Na^+ , K^+ -АТФ-азної реакції є зворотним процесом, а розщеплення АТФ відбувається з утворенням двох проміжних фосфорформ. За вивчення механізму дії речовин, що сенсibiliзують Na^+ , K^+ -АТФ-азу до дії серцевих глікозидів, виявлено, що фосфорилування акцепторної ділянки ензиму сприяє утворенню його глікозидчутливої форми. Реакція взаємодії Na^+ , K^+ -АТФ-ази з убаїном має високу енергію активації, що може бути пов'язано з конформаційними змінами ензиму.

В. К. Лішко також запропонував універсальний механізм взаємодії транспортної системи з убаїном, в основі якого лежить утворення глікозидчутливої форми ензиму саме тоді, коли в процесі циклічної роботи «помпи» калієва форма переносника з'являється на зовнішній поверхні клітинної мембрани. Автором було запропоновано схематичний механізм Na^+ , K^+ -АТФ-азної реакції:



У цій схемі передбачається існування двох фосфорильованих проміжних продуктів

реакції з останньою зворотною фосфатажною стадією.

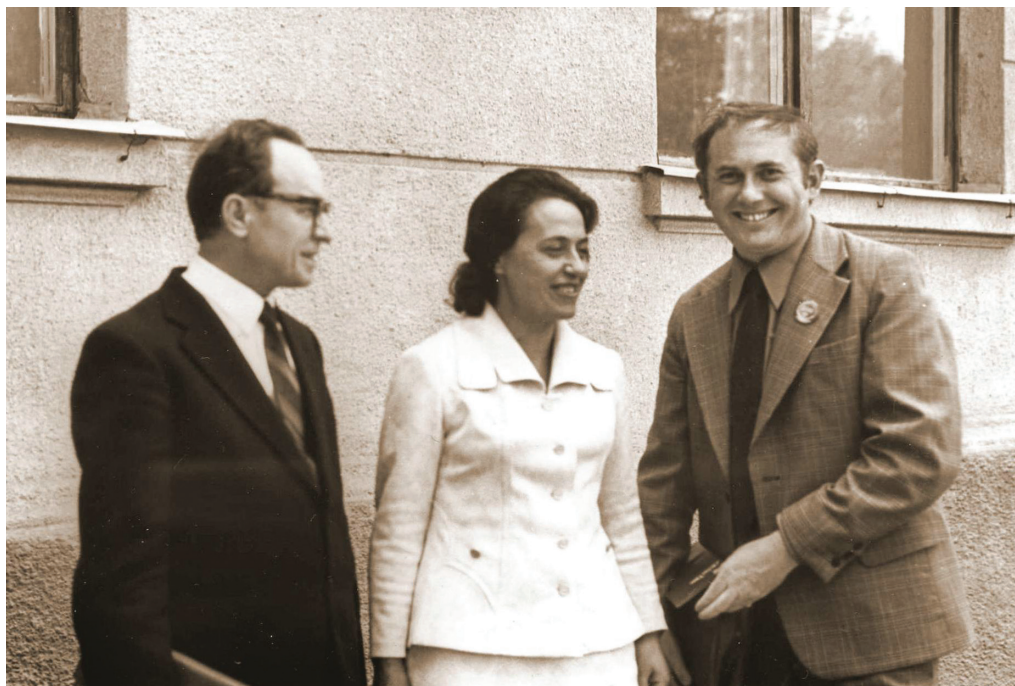
Експериментальні дані, одержані **В. К. Лішко** та іншими авторами під час дослідження молекулярної структури, фізико-хімічних властивостей і механізму дії Na^+ , K^+ -АТФ-ази, завдяки якій відбувається активне транспортування іонів, яке тотожне натрієвому насосу, узагальнені в монографії: **В. К. Лішко** «Натрієвий насос біологічних мембран» (1977 р., «Наукова думка», Київ).

За цю монографію в 1980 р. **В. К. Лішко** (на той час вже академік АН УРСР, директор Інституту біохімії АН УРСР) одержав премію ім. О. В. Палладіна. В монографії систематизовано відомості про взаємодію Na^{2+} , K^+ -АТФ-азної системи з різними інгібіторами, висвітлено можливі механізми утилізації енергії АТФ для перенесення іонів натрію і калію крізь біологічні мембрани та визначено роль натрієвого насоса в клітинному метаболізмі.

Таким чином, роботами співробітників відділу біохімії нервової системи було виявлено локалізацію високоактивної АТФ-ази в мембранному компоненті клітин та її спорідненість до іонів натрію і калію, що свідчило на користь участі АТФ-ази в транспортуванні цих іонів через мембрану. Експериментально встановлено порівняно високу активність АТФ-ази мікросомної фракції в різних відділах нервової системи, насичених провідниковими частинами нервових клітин (аксонами). І саме це підтверджує участь АТФ-ази в транспортуванні іонів у нервових волокнах, що лежить в основі процесу передачі нервового імпульсу.

В «Українському біохімічному журналі» за 1974 р. (т. 46, № 4) було опубліковано велику оглядову статтю **В. І. Назаренка** «О взаимодействии Na , K^+ -АТФ-азы с убаином», в якій відмічено важливість дослідження взаємодії Na^+ , K^+ -АТФ-ази з убаїном для розшифрування механізму функціонування ензимної системи «натрієвої помпи». В огляді також представлено дані, наведені в кандидатській дисертації **В. І. Назаренка** «Фосфорилирование активных центров транспортной АТФ-азы» (1972 р.) (наукові керівники академік О. В. Палладін, канд. біол. наук В. К. Лішко).

У подальшому **Н. П. Полякова** і **В. І. Назаренко** (1976 р.) показали, що зв'язування убаїну із препаратами Na^+ , K^+ -АТФ-ази відбувається за наявності одного з фосфоровмісних агентів: АТФ, ацетилфосфату або неорганічного фосфату. Вони встановили зворотну залежність між здатністю до фосфорилування та швидкістю відновлення активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази,



Я. В. Белік, Я. Т. Терлецька, В. І. Назаренко.
VII Всесоюзна конференція з нейрохімії. Ростов-на-Дону, 1976 р.

пригніченої убаїном. Умови утворення убаїн–ензимного комплексу не позначаються на цій залежності, що може свідчити про однотипність утворюваних проміжних фосфорильованих похідних.

Активність АТР-ази за різних фізіологічних станів тварин було досліджено **В. Й. Кочергою, Л. М. Глебовою** (1977 р.). Було встановлено, що антидепресант *меліпрамін* (*іміпрамін, тофраніл*) у концентраціях 0,05–10,0 мМ (близьких до фізіологічних) знижує активність Na^+ , K^+ -АТР-ази в синаптосомній фракції кори головного мозку бика. Гальмівна дія його залежить від концентрації іонів натрію, калію і рН інкубаційного середовища. Одновалентні іони запобігають гальмівній дії меліпраміну, змінюючи кінетику взаємодії його з ензимом. Автори припускають, що зниження активності Na^+ , K^+ -АТР-ази може бути одним із біохімічних механізмів антидепресивного ефекту за введення меліпроміну в організм людей.

Результати цієї роботи було узагальнено у 1979 р. в кандидатській дисертації **Л. М. Глебової** «*Действие антидепрессанта меліпрамина на Mg^{2+} -зависимую Na, K^+ -активируемую аденозинтрифосфатазную систему синаптосом мозга*» (науковий керівник доктор біол. наук Я. В. Белік).

Активність Na^+ , K^+ -АТР-ази фракції синаптосом головного мозку морської свинки в динаміці експериментального алергічного енцефаломієліту, а також вплив на неї сироватки крові тварин, сенсibilізованих основним енцефалітогенним протеїном мієліну, досліджували **Я. В. Белік, Я. Т. Терлецька, Н. П. Метальникова, Г. А. Бережний** (1977 р.). Автори показали, що, починаючи із сьомої доби інкубаційного періоду активність ензиму приблизно на 50% нижча від його активності в контролі. Таке саме зниження спричинює сироватка крові тварин, одержана на сьому та десяту добу після сенсibilізації. На пізніших етапах розвитку захворювання і на стадії паралічів сироватка сенсibilізованих тварин не впливає на активність ензиму.

У 1978 р. **Н. П. Метальникова** захистила кандидатську дисертацію на тему: « *Na^+ , K^+ -АТР-азная активність и фосфолипидный состав фракции синаптосом головного мозга морской свинки при экспериментальном алергическом энцефаломієлите*» (науковий керівник доктор біологічних наук, професор Я. В. Белік). Автором вперше виявлено зниження активності Na^+ , K^+ -АТР-ази та Mg^{2+} , Ca^{2+} -АТР-ази у спинному і головному мозку морських свинок при експериментальному алергічному енцефаломієліті (ЕАЕ). Зміни



Я. Т. Терлецька, О. В. Кірсенко, Н. М. Полякова, Я. В. Белік, Л. М. Глебова, В. Й. Кочерга, Н. П. Метальнікова. III Український біохімічний з'їзд. Донецьк, 1977 р.

активності цих ензимів мають місце до розвитку характерних неврологічних симптомів захворювання. Встановлено, що за експериментального алергічного енцефаломієліту значно знижується активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази синапсомної фракції, а активність цього ензиму у фракції мікросом відповідає контрольному рівню. Активність Mg^{2+} -АТФ-ази тканини мозку, а також синапсомної та мікросомної фракцій за цієї патології не відрізняється від рівня контролю. Виявлено, що при ЕАЕ змінюється якісний та кількісний склад індивідуальних фосфоліпідів фракції синапсом головного мозку морської свинки (мурчака): відсутній інозитол-фосфатид і знижений вміст фосфатидилхоліну. В той самий час вміст сумарних фосфоліпідів дорівнює контрольним цифрам.

Питання про можливість активного переносу іонів крізь клітинну мембрану, в тому числі й нервових клітин, проти існуючих електрохімічних градієнтів із використанням енергії, що вивільнюється внаслідок клітинного метаболізму, залишалось на той час одним з основних на порядку денному біохімічної та фізіологічної науки. Про це свідчить і той факт, що випуск журналу «Молекулярна біологія» за 1976 р. був повністю

присвячений біологічним мембранам. В цьому випуску було надруковано чотири статті з дослідження транспортування іонів натрію, калію та кальцію в мембранах нервових клітин. Це роботи **О. В. Кірсенко** і **Г. Л. Вавілової**; **С. О. Кудінова**; **О. М. Рожманової**; **В. К. Лішка** та **Л. І. Колчинської**.

На міжнародному радянсько-американському симпозиумі з біологічних мембран, що проходив у Києві (1978 р.) із пленарною доповіддю «Виявлення натрієвих каналів у безклітинному середовищі» виступив **В. К. Лішко**. Стендові доповіді було представлено: **Г. Л. Вавіловою**, **Н. Г. Гіммельрейх**, **О. В. Кірсенко**, **О. В. Кравцовим**, **С. О. Кудіновим**, **М. К. Малишевою**.

Обговоренню питання про використання імунохімічних методів у дослідженні Na^+ , K^+ -АТФ-ази присвячено огляд **О. В. Кравцова** «Иммунохимический подход к выяснению молекулярной организации и механизма действия Na^+ , K^+ -АТФ-азы» (Укр. біохім. журн., 1979 р., т. 51, № 1), в якому проаналізовано роботи, в яких показано, що як каталітична субодиниця ензимного комплексу, так і в його сіалоглікопротеїні є антигенні детермінанти, з якими зв'язуються антитіла, і це впливає на ензимний процес, спряжений з активним транспортуванням Na^+ і K^+ . Тому використан-



Я. Т. Терлецька, О. В. Кірсенко, В. Й. Кочерга, О. М. Рожманова. VII Всесоюзна конференція з нейрохімії. Ростов-на-Дону, 1976 р.

ня антитіл як конформаційно чутливих зондів дає можливість одержати важливу інформацію щодо організації Na^+ , K^+ -АТФ-азного комплексу в мембрані.

В. І. Назаренко, Я. В. Белік, Т. Е. Пастухова, М. О. Лозинський (1980 р.) виявили високу здатність локального анестетика етонію та його аналогів (похідних етилендіаміну) інгібувати активність препаратів Na^+ , K^+ -АТФ-ази і K^+ -*n*-нітрофенолфосфатази з кори головного мозку бика. Це інгібування є незворотнім і знижується з підвищенням вмісту протеїну та іонів натрію в інкубаційному середовищі. Виявлено залежність інгібуючої дії аналогів від довжини їхнього вуглеводневого радикала. Автори вважають, що механізм інгібуючої дії цих хімічних речовин обумовлений їхнім зв'язуванням за участю вуглеводневого радикала в гідрофобній зоні ензиму, при цьому не виключена й електростатична взаємодія.

Дослідження механізму дії етонію на мембранні препарати Na^+ , K^+ -АТФ-ази кори головного мозку бика методами флуоресцентного, радіоізотопного, електронно-мікроскопічного та електрофізіологічного аналізу показало, що етоній впливає на про-

цес утворення проміжного фосфорильованого продукту і не виявляє деструкуючої дії на мембрану (**В. І. Назаренко, Т. Е. Пастухова, Я. В. Белік**, 1983 р.).

При дослідженні активуючої дії гомологів поверхнево-активних речовин ряду алкілсульфатів (від C_4 до C_{15}) на активність K^+ -фосфатази мозку **В. В. Кравцова, Г. Л. Вавілова, Н. А. Ярошенко** (1981 р.) показали, що ці сполуки активують ензим в молекулярно-дисперсному, а не в міцелярному стані. Активуючий вплив алкілсульфатів на ензим підвищується зі збільшенням довжини ланцюга вуглеводневого радикала, досягаючи максимуму за довжини ланцюга C_{12} . Порівнюючи ці дані з даними для Na^+ , K^+ -АТФ-ази, виявлено більшу стійкість фосфатази щодо деструкуючої дії поверхнево-активних речовин.

Вплив різних поверхнево-активних речовин (ПАВ) – алкілсульфатів з довжиною вуглеводневих радикалів C_8 – C_{15} , дезоксихолату, тритону X-100, твіну-80 і дигітоніну – на стійкість Na^+ , K^+ -АТФ-ази фракції мікросом сірої речовини мозку бика до термоінактивації дослідили **В. В. Кравцова, О. В. Кравцов, Н. О. Ярошенко** (1983 р.). Показано, що обробка ензиму NaCl перед термоінактивацією, в тому числі і в присутності ПАВ, підвищує його стійкість до дії температури. У присутності більшості використаних ПАВ активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зберігалась на достатньо високому рівні та істотно не змінювалась за обробки ензиму NaCl . Виявлено взаємозв'язок між здатністю ПАВ знижувати активність транспортної АТФ-ази та солюбілізувати протеїни і ліпіди із фракції мікросом. Одержані результати є важливими для з'ясування особливостей взаємодії різних ПАВ – аналогів мембранних ліпідів – з мембранними протеїнами в умовах денатураційного переходу.

Г. Л. Вавілова, О. В. Кірсенко, В. І. Назаренко, О. М. Рожманова, З. М. Даценко (1981 р.) досліджували ліпідний склад різних препаратів Na^+ , K^+ -АТФ-ази сірої речовини головного мозку бика і кроля у фракціях мікросом і синапсом, а також за солюбілізації тритоном X-100 та дигітоніном і показали, що у фракції мікросом більший вміст фосфоліпідів. У солюбілізованих фрагментах мікросом фосфоліпідів на одиницю протеїну менше, а в солюбілізованих фрагментах синапсом – більше порівняно з вихідними фракціями. У «тритонових» фрагментах синапсом більше фосфоліпідів, ніж у «тритонових» фрагментах мікросом. На відміну від дигітоніну, який активує Na^+ , K^+ -



В лабораторії за обговоренням результатів: О. В. Кірсенко, В. І. Назаренко (1-й ряд), Г. Л. Вавілова, Я. Т. Терлецька, В. Й. Кочерга, Л. С. Смерчинська, Київ, 1982 р.

АТР-азний комплекс із мікросом і синапсом, тритон Х-100 солюбілізує активний ензим тільки з мікросом.

Дослідженнями Г. Л. Вавілової, О. В. Кірсенко, В. Й. Кочерги (1985 р.) дії фосфоліпази A_2 з отрути бджоли та середньоазійської кобри, а також частково ацетильованої фосфоліпази A_2 на фосфоліпідний склад синапсом і активність Mg^{2+} - і Na^+ , K^+ -АТР-аз виявлено, що під впливом цих фосфоліпаз розщеплюються фосфатидилетаноламін, фосфатидилхолін і фосфатидилсерин, активність Na^+ , K^+ -АТР-ази при цьому знижується, а активність Mg^{2+} -АТР-ази підвищується. Фосфоліпаза A_2 отрути бджоли ефективніша за фосфоліпазу з отрути кобри; ці обидва ензими найінтенсивніше розщеплюють фосфатидилетаноламін. Додаванням екзогенного фосфатидилхоліну та фосфатидилсерину можна частково або повністю відновити активність АТР-ази, екзогенний фосфатидилетаноламін в цьому відношенні був неефективний. Враховуючи той факт, що процес захоплення холіну синапсом залежить від Na^+ та активності ензимної системи, яка регулює вміст Na^+ в клітині, в нейротоксичній дії отрути, можливо, руйну-

вання Na^+ , K^+ -АТР-азної системи відіграє важливу роль (В. Й. Кочерга та ін., 1984 р.).

Біохімічним механізмам дії місцевих анестетиків був присвячений огляд В. І. Назаренка і Я. В. Беліка «*Биохимические аспекты действия местных анестетиков*» (Укр. біохім. журн. № 5, т. 57, 1985 р.). Аналіз наведених у статті даних дозволив авторам зробити висновок, що молекулярні механізми дії цих сполук можуть бути пов'язані як із їхньою спорідненістю до мембранних ліпідів, так і впливом на функціональні властивості ензимів, наприклад, спричинити модифікацію активності Na^+ , K^+ -АТР-ази.

З метою підвищення ефективності фундаментальних досліджень у галузі мембранології та біоенергетики у 1982 р. в Інституті біохімії ім. О. В. Палладіна було організовано лабораторію транспортних АТР-аз, до складу якої увійшли деякі співробітники колишнього відділу біохімії нервової системи. Керівником лабораторії було призначено канд. біол. наук, ст. наук. співр. О. В. Кравцова.

Основним науковим напрямом цієї лабораторії було дослідження регуляторних механізмів однієї з ключових іонотранспортних

систем — Na^+ , K^+ -АТР-ази та використання поверхнево-активних речовин (ПАР) як інструментів для з'ясування її структурно-функціональної організації.

За час існування лабораторії (до 1.XII.2005 р.) дані, одержані співробітниками, були опубліковані у 30 наукових статтях, 3 монографіях, одержано 2 авторських свідоцтва. У 1999 р. **О. А. Капля** захистив докторську дисертацію «*Структурно-функціональні властивості ізоформ каталітичної субодиниці Na^+ , K^+ -АТР-ази при мембранотропних впливах*». Результати роботи цієї лабораторії наведено в статті **О. В. Кравцова** «*Лабораторія транспортних АТР-аз*» (У кн.: Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України. 1925–2005. К. 2005 р. С. 230–236).

Також було видано монографії: **Кравцов А. В., Алексеенко И. Р.** *Механизмы регуляции векторных ферментов биомембран.* — К.: Наукова думка, 1990. — 176 с; **Кравцов А. В., Алексеенко И. Р.** *Поверхностно-активные вещества как инструменты исследования биомембран.* — К.: Наукова думка, 1993. — 262 с; **Капля А. А.** *Структурная организация и функциональная роль изоферментов Na^+ , K^+ -АТР-азы.* — К.: Киев. ун-т, 1998. — 162 с.

Аналізуючи одержані співробітниками відділу біохімії нервової системи експериментальні результати з вивчення механізмів активного транспорту одновалентних катіонів крізь мембрани за період 1960–2000 рр. можна узагальнити, що Na^+ , K^+ -АТР-аза — це «молекулярна машина» (іонна помпа), яка забезпечує спряження енергії гідролізу АТР із трансмембранним протиградієнтним перенесенням із клітин Na^+ і закачування в них K^+ (стехіометрія цього процесу — $\text{Na}^+ : \text{K}^+ : \text{АТР} = 3 : 2 : 1$). Їй притаманне унікальне поєднання Na^+/K^+ -транспортування, АТР-гідролазної активності, рецепції серцевих глікозидів та гормонів. Транспортна АТР-аза забезпечує підтримання трансмембранного градієнта цих катіонів і потенціалу спокою на мембрані, що необхідно для реалізації найважливіших процесів клітинної фізіології, зокрема генерації нервового імпульсу.

Поліфункціональний характер ензиму визначає наявність досить складних механізмів його регуляції. Це досконала система регуляції, яка здатна забезпечувати функціонування Na^+ , K^+ -АТР-ази у тих режимах, що відповідають фізіологічним «потреbam» клітини, а також адекватну «реакцію» на численні «сти-

мули»: фізіологічні ліганди (зокрема АТР, АDP, P; Na^+ , K^+ , Mg^{2+}), інгібітори (серцеві глікозиди, ендogenousні інгібітори, ванадат, фтор, олігоміцин), різні біологічно активні речовини, ліпід–протеїнові та протеїн–протеїнові взаємодії з компонентами мембрани тощо.

Швидкий перехід від однієї конформації до іншої (а їх у реакційному циклі тепер відомо понад 20) під впливом фізіологічних лігандів забезпечує надійну роботу Na^+ , K^+ -АТР-ази у трансмембранному режимі, в т.ч. активне Na^+/K^+ -транспортування, узгоджене функціонування багатьох лігандзв'язувальних центрів ензиму. Відповідно до загальноприйнятої схеми, отриманої завдяки дослідженням багатьох науковців різних країн, є чотири основні конформаційні стани молекули ензиму: E_1 (з високою спорідненістю до Na^+), E_2 (з високою спорідненістю до K^+) та відповідні їм фосфорформи — $E_1\text{P}$ і $E_2\text{P}$. Рівновага між ними контролюється іонами Mg. Na^+ , K^+ -АТР-аза функціонує в циклічному режимі, який забезпечує зміну її конформаційного стану.

На внутрішній поверхні плазматичної мембрани зв'язуються іони Na та АТР і відбувається перенесення γ -фосфату АТР на ензим (фосфорилування). Калій зв'язується на зовнішній поверхні мембрани, що супроводжується дефосфорилуванням ензиму. Водночас вивільнюється K^+ у середину клітини, а Na^{2+} — у міжклітинний простір.

Дослідженню регуляторних механізмів Na^+ , K^+ -АТР-ази присвячено чимало періодичних та монографічних публікацій. Одержано колосальний експериментальний матеріал. Проте ще й досі залишається багато нез'ясованих питань, пов'язаних із регуляцією функціонування транспортної АТР-ази. Зокрема, багатьох дослідників цікавить питання щодо регуляторної ролі в цьому процесі іонів Mg та Ca. Заслугує на увагу концепція, згідно з якою Na^+ , K^+ -АТР-аза плазматичних мембран є одним із компонентів системи, що забезпечує підтримання оптимальної концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} і регулюється гормонами. Є вагомі підстави вважати, що зв'язування серцевих глікозидів із дигіталіс-рецептором Na^+ , K^+ -АТР-ази змінює спорідненість кальцію до відповідних зв'язувальних центрів, розташованих безпосередньо на молекулі ензиму або інших, асоційованих із нею.

Підсумовуючи вищенаведене, можна стверджувати, що значний внесок у дослідження і з'ясування механізмів транспортування одновалентних катіонів кризь

мембрану нервових клітин було зроблено співробітниками відділу біохімії нервової системи Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України.

Р. П. Виноградова, В. М. Данилова

У роботі використано матеріали наукової бібліотеки Інституту біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України.

Список вибраних публікацій, які використано під час написання статті

1. Полякова Н. М., Белік Я. В., Царюк Л. А. Протеїназа у функціонально різних відділах центральної нервової системи і в різних структурних елементах клітин головного мозку // Укр. біохім. журн. – 1960. – Том XXXII, № 5. – С. 623–635.
2. Палладин А. В., Полякова Н. М., Малышева М. К. Содержание глутаминазы в различных отделах центральной нервной системы и в клеточных структурах головного мозга // Доклады Академии наук СССР. – 1960. – Том 134, № 5. – С. 1236–1239.
3. Палладин А. В., Полякова Н. М., Кирсенко О. В. Изучение ферментов структурных элементов клеток головного мозга / Пятый международный биохимический конгресс. Москва, август 1961 г. Рефераты секционных сообщений. Том 1. Секции 1-13. Изд-во АН СССР. Москва. – 1961. – С. 467–468.
4. Полякова Н. М., Малышева М. К. Дезамінази аденозину і аденолової кислоти в різних відділах нервової системи і в різних внутріклітинних компонентах головного мозку // Укр. біохім. журн. – 1961. – Том XXXIII, № 5. – С. 713–731.
5. Палладин А. В., Кирсенко О. В. Аденозинтрифосфатаза в различных клеточных фракциях головного мозга // Биохимия. – 1961. – Том 26, Вып. 2. – С. 385–390.
6. Полякова Н. М., Унтина Н. А. Фосфоглюкомутаза различных отделов и внутриклеточных структур головного мозга // Вопросы мед. химии. – 1961. – Т. 7, Вып. 5. – С. 524–527.
7. Курський М. Д. Дослідження методом хроматографії на папері вмісту АТФ і продуктів її обміну в головному мозку // Укр. біохім. журн. – 1963. – Том XXXV, № 4. – С. 535–541.
8. Федоров О. М., Палладин О. В. Розподіл пірофосфатази між субклітинними фракціями різних відділів нервової системи кроля // Там само. – 1963. – Том XXXV, № 5. – С. 690–699.
9. Кирсенко О. В., Палладин О. В., Рожманова О. М., Ейсмонт С. С. Аденозинтрифосфатазна активність нервової тканини // Укр. біохім. журн. – 1963. – Том XXXV, № 6. – С. 807–815.
10. Федоров А. Н. Исследование пирофосфатазы нервной системы / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев. – 1964. – 12 с.
11. Малышева М. К., Полякова Н. М. Дезамінування аденолової кислоти в клітинних компонентах тканини головного мозку // Укр. біохім. журн. – 1965. – Том 37, № 3. – С. 360–369.
12. Малышева М. К. Очистка та вивчення деяких властивостей дезамінази аденолової кислоти головного мозку // Там само. – С. 370–378.
13. Кирсенко О. В. О связи аденозинтрифосфатазной активности тканей с процессами катионного транспорта / В кн.: Протоплазматические мембраны и их функциональная роль. Труды первого симпозиума по вопросам общей физиологии. Киев, «Наукова думка». – 1965. – С. 180–192.
14. Кирсенко О. В. Про вплив іонів натрію та калію на аденозинтрифосфатазну активність нервової тканини // Укр. біохім. журн. – 1965. – Том 37, № 6. – С. 850–860.
15. Рожманова О. М. Аденозинтрифосфатазна активність нервів // Там само. – 1966. – Том 38, № 2. – С. 111–116.
16. Рожманова О. М., Палладин О. В. Аденозинтрифосфатазна активність нервів під час їх дегенерації та регенерації // Там само. – С. 117–122.
17. Рожманова О. М. Аденозинтрифосфатазная активность нерва / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев. – 1966. – 17 с.
18. Тюленев В. І. Вивчення активності неорганічної пірофосфатази в головному мозку кролів у нормі та при голодуванні //

- Укр. біохім. журн. – 1967. – Том 39, № 1. – С. 11–17.
19. Тюленев В. І., Белік Я. В. Неорганічна пірофосфатаза головного мозку ховрахів при неспанні та сплячці // Там само. – 1967. – Том 39, № 3. – С. 231–236.
 20. Лишко В. К. О связи между Na^+ , K^+ -АТФазной и K^+ -ацетилфосфатазной активностями в микросомах мозга // Доклады АН СССР. – 1969. – Том 184, № 6. – С. 1441–1443.
 21. Лишко В. К., Малышева М. К., Полякова Н. М. О конформационных изменениях, связанных с Na^+ - K^+ -АТФ-азной активностью // Там же. – Том 187, № 5. – С. 1191–1193.
 22. Палладин А. В., Лишко В. К., Сметана Н. Г. Дициклогексилкарбодимид – ингибитор транспортной аденозинтрифосфатазы // Там же. – Том 189, № 1. – С. 210–212.
 23. Лишко В. К., Малышева М. К., Полякова Н. М. Торможение Na^+ , K^+ -АТФазы ткани головного мозга оуабаином в фосфорилирующей системе / Второй Всесоюзный биохимический съезд. Тезисы докладов. – 1969. – С. 52.
 24. Палладин А. В., Кирсенко О. В., Вавилова Г. Л. Na^+ , K^+ -активируемая АТФаза мозга и извлечение ее с помощью детергентов // Биохимия. – 1970. – Том 35, Вып. 2. – С. 404–411.
 25. Лишко В. К., Малышева М. К., Полякова Н. М. Конформационные изменения в структуре ионного насоса при взаимодействии Na^+ , K^+ -АТФазы с оуабаином // Там же. – Вып. 3. – С. 510–515.
 26. Малышева М. К., Лишко В. К., Полякова Н. М. Влияние ацетилфосфата и неорганического фосфата на взаимодействие Na^+ - K^+ -АТФазы с оуабаином // Там же. – Вып. 4. – С. 717–720.
 27. Кирсенко О. В., Вавилова Г. Л. Роль фосфолипидов в проявлении Na^+ , K^+ -АТФ-азной активности // Укр. біохім. журн. – 1971. – Том 43, № 1. – С. 25–34.
 28. Лишко В. К., Малышева М. К., Полякова Н. М. Взаимодействие Na^+ , K^+ -АТФ-азы с оуабаином // Укр. біохім. журн. – 1971. – Том 43, № 1. – С. 17–24.
 29. Кирсенко О. В., Вавилова Г. Л. Влияние детергентов на Na^+ , K^+ -АТФ-азу и ее сольubilизация // Там же. – 1972. – Том 44, № 1. – С. 125–132.
 30. Назаренко В. І., Палладин О. В., Лишко В. К. Вплив одновалентних катіонів на гальмування фосфорильованої форми Na^+ , K^+ -АТФ-ази мозку оуабаином // Там же. – 1972. – Том 44, № 2. – С. 139–144.
 31. Лишко В. К., Назаренко В. І., Угарова Т. П. Вплив фосфорилуючих агентів на гальмування Na^+ , K^+ -АТФ-ази оуабаином // Там же. – 1972. – Том 44, № 5. – С. 638–643.
 32. Назаренко В. І. Фосфорилирование активных центров транспортной АТФ-азы / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев. – 1972. – 12 с.
 33. Лишко В. К., Колчинская Л. И., Сметана Н. Г. Взаимодействие карбодимидов с Na^+ , K^+ -АТФазой мозга // Биохимия. – 1972. – Том 37, Вып. 5. – С. 891–897.
 34. Кирсенко О. В., Демченко П. О., Вавилова Г. Л., Ярошенко Н. А., Кравцов О. В. Вивчення взаємодії поверхнево-активних речовин із мембранними структурами мозку та їх Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-азною активністю // Укр. біохім. журн. – 1974. – Том 46, № 3. – С. 300–306.
 35. Ярошенко Н. А., Вавилова Г. Л. Зв'язок між хімічною будовою поверхнево-активних речовин і їх здатністю активувати Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-азу мозку // Там само. – 1974. – Том 46, № 3. – С. 307–311.
 36. Назаренко В. І. О взаимодействии Na^+ , K^+ -АТФ-азы с оуабаином // Укр. біохім. журн. – 1974. – Том 46, № 4. – С. 531–543.
 37. Кравцов О. В., Кирсенко О. В. Одержання «розчинної» Na^+ , K^+ -АТФ-ази з різних субклітинних мембранних структур мозку за допомогою нейонних детергентів // Укр. біохім. журн. – 1974. – Том 46, № 6. – С. 719–724.
 38. Кирсенко О. В., Вавилова Г. Л., Ярошенко Н. А. Влияние поверхностно-активных веществ на Mg^{2+} -, Na^+ -, K^+ -АТФазную активность различных мембранных структур мозга // Успехи нейрохимии. Доклады на 6-й Всесоюзной конференции по нейрохимии. Л., 1974. Изд-во «Наука». – 1974. – С. 118–125.
 39. Вавилова Г. Л. Изучение взаимодействия детергентов с Mg^{2+} -, Na^+ -, K^+ -АТФ-азой мембранных структур мозга / Автореф. дис. канд. биол. наук. – Киев. – 1974. – 25 с.
 40. Лишко В. К. Свойства и механизм действия Na^+ , K^+ -АТФазы / Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Ленинград. – 1974. – 46 с.
 41. Кравцов А. В. Выделение и сравнительное изучение Mg^{2+} -зависимой Na^+ , K^+ -активируемой АТФ-азы из различных мембранных структур мозга / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев. – 1974. – 25 с.
 42. Чупыра В. В., Кирсенко О. В. Изучение влияния ультразвука на мембранные структуры, обладающие Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-азной и ацетилфосфатазной активностями

- / «Физико-химические основы функционирования надмолекулярных структур клетки». Материалы Всесоюзного симпозиума. Москва, 17–19 июня. Часть 2. – 1974. – С. 126–128.
43. *Кравцов О. В., Кирсенко О. В.* Деякі властивості «розчинної» Na^+ , K^+ -АТФ-ази, одержаної з різних субклітинних мембранних структур мозку за допомогою нейонних детергентів // Укр. біохім. журн. – 1975. – Том 47, № 1. – С. 44–48.
 44. *Кирсенко О. В., Чупира В. В.* Вплив ультразвуку на Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-азну та K^+ -ацетилфосфатазну активності субклітинних мембранних структур головного мозку // Там само. – № 2. – С. 139–145.
 45. *Назаренко В. І., Полякова Н. М.* Про оборотність гальмування Na^+ , K^+ -АТФ-ази оубаїном // Укр. біохім. журн. – 1976. – Том 48, № 4. – С. 426–429.
 46. *Кравцов А. В.* Выделение Na^+ , K^+ -АТФ-ази // Там само. – 1976. – Том 48, № 6. – С. 769–780.
 47. *Кочерга В. Й., Глєбова Л. М.* Кінетичні дослідження гальмування меліпраміном Na^+ , K^+ -АТФ-азної активності синапсосомної фракції мозку // Там само. – 1977. – Том 49, № 1. – С. 66–71.
 48. *Кравцов О. В., Кирсенко О. В.* Одержання високоактивних препаратів «розчинної» Na^+ , K^+ -АТФ-ази з різних мембранних структур мозку // Там само. – С. 78–82.
 49. *Белік Я. В., Терлецька Я. Т., Метальникова Н. П., Бережний Г. А.* Na^+ , K^+ -АТФ-азна активність фракції синапсосом головного мозку морської свинки в динаміці експериментального алергічного енцефаломієліту // Там само. – № 5. – С. 81–85.
 50. *Лишко В. К.* Натриевый насос биологических мембран. – К.: Наук. думка, 1977. – 144 с.
 51. *Кравцова В. В., Кирсенко О. В.* Характеристика влияния поверхностно-активных веществ на K^+ -зависимую фосфатазную активность ткани мозга // Укр. биохим. журн. – 1978. – Том 50, № 5. – С. 649–654.
 52. *Кравцов А. В.* Каталитические свойства солюбилизированной Na^+ , K^+ -АТФ-азы мозга // Там же. – № 6. – С. 765–770.
 53. *Кравцова В. В., Кирсенко О. В.* K^+ -фосфатаза мозку та її солюбілізація // Доповіді АН УРСР, серія Б. – 1978. – № 5. – С. 457–460.
 54. *Метальникова Н. П.* Na^+ , K^+ -АТФ-азная активность и фосфолипидный состав фракции синапсосом головного мозга морской свинки при экспериментальном аллергическом энцефаломиелите / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев. – 1978. – 22 с.
 55. *Кравцова В. В.* K^+ -зависимая фосфатаза ткани мозга: солюбилизация, свойства и связь с Na^+ , K^+ -АТФ-азным комплексом / Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев. – 1979. – 27 с.
 56. *Кравцов А. В.* Иммунохимический подход к выяснению молекулярной организации и механизма действия Na^+ , K^+ -АТФ-азы // Укр. биохим. журн. – 1979. – Том 51, № 1. – С. 89–99.
 57. *Назаренко В. И., Белик Я. В., Пастухова Т. Е., Лозинский М. О.* О влиянии ряда производных этилендиамина на Na^+ , K^+ -АТФ-азную и K^+ -*p*-нитрофенилфосфатазную активности ферментных препаратов мозга // Там же. – 1980. – Том 52, № 6. – С. 759–766.
 58. *Кравцова В. В., Вавилова Г. Л., Ярошенко Н. А.* Активация K^+ -фосфатазы и Mg^{2+} , Na^+ , K^+ -АТФ-азы мозга алкилсульфатами натрия // Там же. – 1981. – Том 53, № 3. – С. 61–65.
 59. *Вавилова Г. Л., Кирсенко О. В., Назаренко В. И., Рожманова О. М., Даценко З. М.* Липидный состав различных препаратов Na^+ , K^+ -АТФ-азы головного мозга // Там же. – 1981. – Том 53, № 5. – С. 42–48.
 60. *Кравцова В. В., Кравцов А. В., Ярошенко Н. А.* Термостабильность Na^+ , K^+ -АТФ-азы мозга в присутствии поверхностно-активных веществ // Там же. – 1983. – Том 55, № 4. – С. 392–397.
 61. *Кочерга В. И.* Роль захвата холина нервными окончаниями в синаптической передаче // Там же. – 1984. – Том 56, № 1. – С. 97–109.
 62. *Назаренко В. И., Белик Я. В.* Биохимические аспекты действия местных анестетиков // Там же. – 1985. – Том 57, № 5. – С. 85–100.
 63. *Вавилова Г. Л., Кирсенко О. В., Кочерга В. И.* Влияние фосфолипаз A_2 яда пчелы и кобры на фосфолипидный состав и Na^+ , K^+ -АТФ-азную активность синапсосом // Там же. – 1985. – Том 57, № 6. – С. 28–34.

Отримано 01.07.2011