

Р.І. Кратенко,
А.Б. Мітряєв

Харківський державний
медичний університет

Вплив іонізуючого випромінювання та 12-краун-4 на рецепторний апарат і систему вторинних посередників неокортексу щурів

Influence of ionizing radiation and 12-crown-4 on receptor apparatus and second messenger system in rat neocortex

Цель работы: Исследование состояния адreno- и серотониновых рецепторов и системы циклических нуклеотидов в неокортексе крыс, подвергавшихся действию ионизирующего излучения и 12-краун-4.

Материалы и методы: Параметры связывания ^3H -серотонина и ^3H -спиперона — селективных лигандов серотониновых рецепторов первого и второго типов (C_1 и C_2) и ^3H -WB4101 и ^3H -дигидроалprenолола — селективных лигандов α_1 - и β -адренорецепторов устанавливали радиолигандным методом с мембранами синапсом неокортекса крыс. Состояние системы циклических нуклеотидов оценивали по содержанию цАМФ, цГМФ и активности аденилат-, гуанилатциклазы и фосфодиэстеразы в грубой мембранной фракции неокортекса.

Результаты: Наблюдали увеличение сродства и снижение количества α_1 -адренорецепторов облученных и токсикованных 12-краун-4 животных сравнительно с контролем. Регистрировали также повышение сродства и количества β -адренорецепторов у животных экспериментальных групп. Сродство C_1 -рецепторов увеличивалось у экспериментальных животных в пределах 24–36 %, количество мест связывания уменьшалось на 16–21 %. Снижение активности аденилатциклазы коррелировало с уменьшением содержания цАМФ у животных, токсикованных 12-краун-4 (–42 %) и у облученных (–50 %). Действие 12-краун-4 и ионизирующей радиации приводило к усилению активности гуанилатциклазы на 86 и 66 %, увеличению содержания цГМФ на 82 и 66 % соответственно в сравнении с контролем. Активность фосфодиэстеразы у животных обеих экспериментальных групп была большей, чем контрольный показатель, на 146 и 67 % соответственно.

Выводы: Действие 12-краун-4 и ионизирующего облучения приводит к изменениям сродства и количества рецепторов, активности ферментов синтеза и катаболизма циклических нуклеотидов, содержания цАМФ и цГМФ. Влияние 12-краун-4 и ионизирующего излучения имеет неспецифический модуляторный характер и может реализовываться через вызванные конформационные изменения мембранных рецепторных и ферментных комплексов, через стимуляцию процессов перекисного окисления липидов мембран, модификацию фосфолипидного микроокружения мембранных белков, ионный дисбаланс клеток. Изменения в системах рецепторов и циклических нуклеотидов под действием 12-краун-4 и ионизирующего излучения являются причиной и отображением дисметаболических явлений.

Ключевые слова: краун-эфиры, ионизирующее излучение, адренорецепторы, серотониновые рецепторы, неокортекс, аденилатциклаза, гуанилатциклаза, циклические нуклеотиды, фосфодиэстераза.

Objective: To investigate the state of adreno- and serotonin receptors as well as cyclic nucleotides system in neocortex of rats exposed to ionizing radiation and 12-crown-4.

Material and Methods: The binding parameters of ^3H -serotonin, ^3H -spiperone - 5HT1- and 5HT2-receptor selective ligands and of ^3H -WB4101 and ^3H -dihydroalprenolole - selective ligands of α_1 - and β -adrenoreceptors were established with radioligand method in synaptosome membranes of rat neocortex. Cyclic nucleotide system state was evaluated according to cAMP and cGMP contents and activity of adenylate-, guanylatecyclase and phosphodiesterase in rough membrane fraction of neocortex.

Results: Increase in α_1 -adrenoreceptor affinity and decrease in their quantity in rats exposed to radiation and toxified by 12-crown-4 compared to the control was observed. Increase in β -adrenoreceptor affinity and quantity of the animal experimental groups was registered. The affinity of 5-HT1-receptors of experimental rats was elevated by 24-36 %, the binding site quantity diminished by 16-21 %. The adenylatecyclase activity reduction correlated with decrease in cAMP contents of animals toxified with 12-crown-4 (–42 %) and of exposed animals (–50 %). 12-crown-4 and ionizing radiation action resulted in the induction of guanylatecyclase activity by 86 % and 66 %, respectively, and in the elevation of cGMP contents by 82 % and 66 %, respectively, compared with the control. The phosphodiesterase activity of the animals of both experimental groups was higher than the control figure by 146 % and 67 % accordingly.

Conclusion: Action of 12-crown-4 and ionizing radiation results in the alterations of receptor affinity and quantity, the activity of cyclic nucleotide synthesis and catabolism enzymes, cAMP and cGMP contents. 12-crown-4 and ionizing radiation influence has a non-specific modulating character and may be realized via evoked conformational changes of membrane receptor and protein complexes, via stimulation of membrane lipid peroxidation process, modification of membrane protein phospholipid microsurrrounding, ionic disbalance of cells. The alterations of receptor and cyclic nucleotide systems in the action of 12-crown-4 and ionizing radiation are a cause and reflection of dismetabolic phenomena.

Key words: crown ethers, ionizing radiation, adrenoreceptors, serotonin receptors, neocortex, adenylatecyclase, guanylatecyclase, cyclic nucleotides, phosphodiesterase.

Попередні наші дослідження синергічної дії 12-краун-4 та йонізуючого випромінювання на інтенсивність ПОЛ і антиоксидантну

систему [1, 2] дозволили нам продовжити вивчення радіоімітерних властивостей цього макроциклу.

Відомо, що в реалізації впливу різноманітних речовин, у тому числі ксенобіотиків, на клітини організму провідне місце посідає рецепторний ланцюг дискримінації хемічної інформації. Рецептори біологічно активних речовин — це глікопротеїнові молекули, що знаходяться на зовнішній біологічній мембрані або у цитозолі клітини. Основною функцією мембранних рецепторних молекул є виділення з сукупності інформаційних сигналів відповідного ліганду й запуск ланцюга внутріклітинних перетворень для відповіді клітини на сигнал, що надійшов [3].

Серотонінові рецептори першого й другого типів, а також α - і β -адренорецептори опосередковують численні фізіологічні та біохемічні ефекти в організмі здорових теплокровних тварин. Зі змінами стану цих рецепторів дослідники пов'язують розвиток різноманітних патологічних проявів з боку центральної нервової системи, шлунково-кишкового тракту, дихальної, серцево-судинної систем, тобто саме тих систем, симптоми порушення яких характерні для тварин, токсикованих краун-ефірами [4].

Внутріклітинні ефекти багатьох ендо-, а також екзогенних біологічно активних речовин реалізуються за участю систем «вторинних» посередників, до яких належать система циклічних нуклеотидів та Ca^{2+} -мобілізувальна поліфосфоінозитидна система.

У даний час доведено, що один з найважливіших механізмів, які опосередковують фізіологічні та біохемічні ефекти багатьох біологічно активних речовин, полягає в стимуляції утворення циклічних нуклеотидів цАМФ і цГМФ, функцією яких є трансформація «міжклітинних взаємодій на внутріклітинні» [5].

Визначенню цАМФ та цГМФ як «вторинних месенджерів», які запускають складні біохемічні процеси, присвячені численні роботи, насамперед пов'язані з вивченням синтезувальних та катаболізувальних цАМФ- та цГМФ-ферментів: аденілатциклази (КФ 4.6.1.1), гуанілатциклази (КФ 4.6.1.2), фосфодіестерази циклічних нуклеотидів (КФ 3.1.14.17 та КФ 3.1.14.18) [6, 7], а також взаємозв'язку циклічних нуклеотидів з біогенними моноамінами й катехоламінами [8].

Рівень циклічних нуклеотидів у клітинах залежить від балансу активності ферментів їх синтезу та катаболізму: аденілат-, гуанілатциклази, фосфодіестерази. Циклічні нуклеотиди є посередниками впливу на клітини гормонів, нейромедіаторів та інших регулювальних молекул.

Дані про мембранотропні ефекти 12-краун-4 та йонізувального випромінювання [1, 2] дозволяють передбачати вплив цих факторів на стан мембранно-зв'язаних біомолекул, у тому числі рецепторів. Крім того, як і інші ксенобіотики, краун-ефіри чинять дисгомеостатичний вплив на організм [3]. Одним із проявів такого впливу можуть бути зміни у функціонуванні регуляторних систем організму.

Виходячи з викладеного, метою роботи було дослідження стану адрено- та серотонінових рецепторів і системи циклічних нуклеотидів (концентрації цАМФ, цГМФ, активності ферментів метаболізму циклічних нуклеотидів) у неокортексі тварин, що підлягали дії йонізувального випромінювання та 12-краун-4.

Методика дослідження

Білих щурів (маса 180–210 г), використаних в експерименті, утримували у стандартних умовах виварію. Першій дослідній групі тварин протягом 15 днів за допомогою зонду щодня вводили водяну емульсію 12-краун-4 у 1/1000 ДЛ₅₀ (1,79 мг/кг). Друга дослідна група щурів цілодобово (протягом того ж терміну) щодня одержувала хронічне загальне опромінювання, що генерувалося за допомогою установки «Експеримент» (Росія, джерело γ -випромінювання — ^{60}Co). Дозиметричний контроль проводили клінічним дозиметром типу 27012 (Veb RFT Messelektronik «Otto Schon», Німеччина) з дозиметричною камерою Va-K-254 (Veb RFT Messelektronik «Otto Schon»). Довірчі похибки визначали безпосередньо в кожній клітці, куди на час опромінювання вміщували щурів. Експозиційна доза в прямому пучку становила $5,5 \pm 0,3$ мГр/год; у зоні опромінення, прилеглій до прямого пучка — $0,05 \pm 0,003$ мГр/год; сумарна поглинута доза — 1,8–1,9 Гр.

Параметри зв'язування селективних лігандів серотоніновими рецепторами першого та другого типів визначали методом рівноважного зв'язування ^3H -серотоніну (для C_1 -рецепторів) і ^3H -спіперону (для C_2 -рецепторів) з мембранами синапсом неокортексу. Визначали також параметри зв'язування селективних лігандів α_1 -адренорецепторів — ^3H -WB4101, β -адренорецепторів — ^3H -дигідроалпренололу. Для характеристики функціонального стану рецепторів розраховували константу дисоціації K_d та максимальне число місць зв'язування V_{max} .

Фракцію синапсом одержували методом [10]. Визначення параметрів зв'язування селективних лігандів C_1 - та C_2 -серотоніновими рецепторами неокортексу тварин проводили за [11]. Визначення параметрів зв'язування високоселективного ліганду α_1 -адренорецепторів — ^3H -WB4101 проводили методикою [12] з міні-

мальними модифікаціями, зумовленими малою кількістю біоматеріалу. Як позначений ліганд використовували $^3\text{H-WB4101}$ ($0,55$ або $1,48$ ТБк/ммоль, «Амершам», Англія). Визначення параметрів зв'язування ^3H -дигідроалprenололу з β -адренорецепторами проводили за [13]. Як селективний ліганд β -адренорецепторів використовували ^3H -дигідроалprenолол ($1,41$ або $2,11$ ТБк/ммоль, «Амершам», Англія). Вміст білка визначали за Лоурі [14]. Його кількість становила 300 – 500 мкг на пробу. Специфічне зв'язування ліганду рецепторами визначали як різницю між загальним і неспецифічним зв'язуванням. Рівень неспецифічного зв'язування становив до 30% від рівня загального.

Обробку результатів експериментів проводили з використанням графіків Скетчарда [15] програмою ЛІГАНД для ПЕОМ.

При вивченні параметрів зв'язування селективних лігандів адрено- та C_2 -рецепторів графік Скетчарда мав криволінійний характер (гіпербола), що могло свідчити про гетерогенність рецепторного пулу або наявність негативної кооперативності в пулі рецепторів. Графік Хілла, використаний для оцінки наявності негативної кооперативності, мав вигляд прямої з нахилом до осі абсцис, що дорівнював 1 . Це вказувало на відсутність кооперативних ефектів [16]. У зв'язку з цим, прийнявши альтернативне припущення про існування кількох пулів рецепторів, у подальшому аналізі матеріалу використовували метод Rosental [17], який дозволяв виділити в графіку Скетчарда дві системи — низько- та високоафінного зв'язування. Таким чином ідентифікували високо- та низькоафінний пули α_1 - й β -адренорецепторів у тварин усіх експериментальних і контрольної груп.

Стан системи циклічних нуклеотидів оцінювали за вмістом цАМФ та цГМФ у грубій мембранній фракції неокортексу головного мозку щурів з використанням стандартних наборів для визначення циклічних нуклеотидів фірми «Амершам» (Англія).

Для приготування грубої мембранної фракції 200 мг тканини гомогенізували у 8 мл 50 мМ трис-НСІ буфера, рН $7,5$ (5 мМ теофілін, 4 мМ MgCl_2) на холоді в скляному гомогенізаторі (80 up/down). Гомогенат центрифугували при 1500 g (0 – 4 °C) протягом 5 хв. Супернатант центрифугували при 18000 g (0 – 4 °C) протягом 30 хв. Кінцевий осад регомогенізували в $1,5$ мл того ж буфера.

Активність аденілатциклази (КФ 4.6.1.1) визначали за методикою, описаною [18] з незначними модифікаціями, гуанілатциклази (КФ 4.6.1.2) — за [19]. Визначали базальний рівень активності ферментів. Активність фосфодіестерази (КФ 3.1.14.17) оцінювали за [20].

Результати експериментів обробляли традиційними методами параметричної статистики за допомогою пакета програм STATGRAPHIC з використанням ПК.

Результати та їх обговорення

Значення K_d високоафінного пулу α_1 -рецепторів склали цифри від $0,19 \pm 0,01$ нМ у тварин, токсикованих 12-краун-4, до $2,27 \pm 0,33$ нМ — у піддослідних контрольної групи (відмінності вірогідні, $\rho < 0,05$); для низькоафінного пулу ці значення склали від $1,33 \pm 0,07$ нМ у тварин, токсикованих 12-краун-4, до $4,13 \pm 0,33$ нМ у щурів контрольної групи (відмінності вірогідні, $\rho < 0,05$).

Кількість високоафінних α_1 -рецепторів дорівнювала від $73,7 \pm 0,82$ фмоль/мг білка у опромінених тварин до $168,1 \pm 9,48$ фмоль/мг білка в контролі (відмінності вірогідні, $\rho < 0,01$). Число низькоафінних рецепторів становило від $27,1 \pm 3,36$ фмоль/мг білка у опромінених тварин до $78,4 \pm 4,72$ фмоль/мг у контрольній групі (відмінності вірогідні, $\rho < 0,05$).

Тенденція зміни функціональних властивостей α_1 -адренорецепторів неокортексу тварин експериментальних груп була однотипною, зміни — статистично вірогідними: спостерігали збільшення спорідненості (зменшення значення K_d) високо- й низькоафінного пулів рецепторів до ліганду. Відзначали також зниження кількості α_1 -адренорецепторів обох пулів порівняно з контролем.

Підвищення спорідненості високоафінного пулу α_1 -адренорецепторів складало для тварин, токсикованих 12-краун-4, 92% , опромінених — 72% , зниження кількості високоафінних рецепторів дорівнювало 53 та 46% відповідно.

У неокортексі експериментальних тварин відзначали підвищення спорідненості низькоафінного пулу α_1 -адренорецепторів на 68% у тварин, токсикованих 12-краун-4, та на 54% — у опромінених. При цьому зниження числа рецепторів становило 65 та 38% відповідно.

Значення K_d високоафінного пулу β -адренорецепторів дорівнювало від $0,21 \pm 0,01$ нМ у опромінених тварин до $0,39 \pm 0,02$ нМ у особин контрольної групи (відмінності вірогідні, $\rho < 0,01$). Кількість рецепторів цього пулу змінювалася від $11,2 \pm 0,08$ фмоль/мг білка в контрольній групі до $19,5 \pm 0,15$ фмоль/мг у тварин, токсикованих 12-краун-4 (відмінності вірогідні, $\rho < 0,01$).

Значення K_d низькоафінного пулу становили від $0,55 \pm 0,02$ нМ у опромінених тварин до $0,87 \pm 0,04$ нМ у щурів контрольної групи (відмінності вірогідні, $\rho < 0,05$). Кількість низькоафінних β -адренорецепторів варіювала в межах $8,7 \pm 0,24$ фмоль/мг білка в контрольній групі до $14,8 \pm 0,29$ фмоль/мг у тварин, токсикованих 12-краун-4 (відмінності вірогідні, $\rho < 0,05$).

Тенденція зміни функціональної активності високо- та низькоафінного пулів β -адреноре-

цепторів у опромінених і токсикованих тварин була подібною: відзначали збільшення спорідненості та кількості високо- й низькоафінних рецепторів у тварин експериментальних груп.

Параметри зв'язування селективних лігандів C_1 -та C_2 -серотонінових рецепторів у тварин експериментальних груп відрізнялися від аналогічних показників контрольної групи, але відмінності були подібними (табл. 1, 2).

Таблиця 1 — Параметри зв'язування 3H -серотоніну C_1 -рецепторами кортексу щурів, токсикованих краун-ефірами

Table 1 — 3H -serotonin binding with C_1 -receptors in the cortex of the rats toxified with crown-ethers

Група	K_d , нмоль	B_{max} , фмоль/мг білка
12-краун-4	1,63 ± 0,14*	93,3 ± 7,4
Іонізувальна радіація	1,74 ± 0,16*	82,5 ± 6,1*
Контроль	2,82 ± 0,19	112,3 ± 8,2

Примітка. * — розбіжності вірогідні порівняно з контролем, $p < 0,05$, кількість тварин у кожній групі — 7.

Спорідненість C_1 -рецепторів збільшувалася в експериментальних тварин у межах 24—36 %, кількість місць зв'язування зменшувалася на 16—21 %.

Відмінності K_d високоафінного пулу C_2 -рецепторів опромінених та токсикованих тварин від контролю знаходилися в межах 16—32 %, низькоафінного пулу — 12—25 %. Кількість місць зв'язування 3H -спіперону в неокортексі експериментальних тварин була меншою від контролю на 10—25 % (високоафінний пул) та на 17—32 % (низькоафінний пул).

Дія йонізувального випромінювання та 12-краун-4 призводила до зниження активності аденілатциклази в неокортексі тварин. У щурів, токсикованих 12-краун-4, активність ферменту знижувалась на 59 % порівняно з контролем, у опромінених тварин — на 42 %. Зниження активності аденілатциклази корелювало зі зни-

женням вмісту цАМФ у тварин, токсикованих 12-краун-4 (−42 %), і в опромінених (−50 %) (відмінності вірогідні, $p < 0,05$).

Протилежний характер впливу досліджуваних факторів був характерним для системи гуанілатциклаза — цГМФ. Дія 12-краун-4 та йонізувальної радіації призводила до збільшення активності гуанілатциклази в неокортексі відповідно на 86 та 66 %, вмісту цГМФ у неокортексі відповідно на 82 та 66 % порівняно з контролем (відмінності вірогідні, $p < 0,05$).

Активність катаболічного ферменту циклічних нуклеотидів фосфодіестерази у тварин, токсикованих 12-краун-4, а також опромінених тварин була більшою за контрольні показники на 146 та 67 % відповідно (відмінності вірогідні, $p < 0,05$).

Таким чином, одержані дані свідчать про вплив досліджуваних факторів (йонізувального випромінювання та 12-краун-4) на систему циклічних нуклеотидів неокортексу експериментальних тварин, в результаті чого змінюються активність ферментів синтезу та катаболізму циклічних нуклеотидів, а також вмісту цАМФ і цГМФ.

Визначені зміни функціонального стану рецепторів неокортексу в експериментальних тварин (зважаючи на мембранну локалізацію адренорі серотонінергічних рецепторів) свідчать на користь гіпотези про мембранотропні властивості 12-краун-4 та йонізувального випромінювання й також пояснюють з'явлення симптомів порушень з боку центральної нервової системи, шлунково-кишкового тракту, дихальної та серцево-судинної систем у токсикованих і опромінених тварин.

Досліджуваний краун-ефір не має структурної аналогії з ендогенними біорегуляторними молекулами — гормонами, медіаторами, які

Таблиця 2 — Параметри зв'язування 3H -спіперону C_2 -рецепторами кортексу щурів, токсикованих краун-ефірами

Table 2 — 3H -serotonin binding with C_2 -receptors in the cortex of the rats toxified with crown-ethers

Група	Пул рецепторів			
	K_d , нмоль		B_{max} , фмоль/мг білка	
	високоафінний	низькоафінний	високоафінний	низькоафінний
12-краун-4	0,15 ± 0,01	0,39 ± 0,042	63,1 ± 3,7	47,7 ± 5,1
Іонізувальна радіація	0,14 ± 0,01	0,37 ± 0,037	61,4 ± 2,3	41,9 ± 3,8
Контроль	0,17 ± 0,009	0,48 ± 0,03	70,4 ± 3,4	56,2 ± 2,1

Примітка. Кількість тварин у кожній групі — 7.

реалізують свій специфічний вплив на клітини, зокрема, через циклічні нуклеотиди як вторинні посередники. У зв'язку з цим, навряд чи може йтися про селективний вплив 12-краун-4 на рецепторну та післярецепторну ланку реалізації міжклітинної інформації.

Одержані результати можуть пояснюватися неспецифічним (модуляторним) характером впливу 12-краун-4 та йонізувального випромінювання на мембранні рецепторні, ферментні, каналоутворювальні білкові комплекси. Неспецифічна дія полягає, на нашу думку, у здатності факторів безпосередньо призводити до конформаційних перебудов зазначених мембранних білкових комплексів, у стимуляції процесів перекисного окиснення мембранних ліпідів, зміні фосфоліпідного оточення, відповідно, функціональної активності мембранних білків, зокрема, ферментів.

Крім того, 12-краун-4 може призводити до йонного дисбалансу клітин через вплив на білки-каналоутворювачі, а також через здатність цієї сполуки до комплексоутворення з біогенними елементами. Йонний дисбаланс може бути причиною більш виражених змін у системі циклічних нуклеотидів неокортексту тварин, токсикованих 12-краун-4.

Зазначені зміни в системах адрено-, серотонінових рецепторів та циклічних нуклеотидів, що розвиваються внаслідок впливу йонізувального випромінювання та 12-краун-4, є однією з причин і відображенням дисметаболических явищ, характерних для клітин організму в умовах токсичної дії цих факторів.

ВИСНОВКИ

1. Дія 12-краун-4 та йонізувального випромінювання призводить до змін у системах адрено- та серотонінових рецепторів і циклічних нуклеотидів неокортексту тварин. Змінюються спорідненість та кількість рецепторів, активність ферментів синтезу й катаболізму циклічних нуклеотидів, вміст цАМФ та цГМФ.

2. Вплив 12-краун-4 та йонізувального випромінювання має неспецифічний модуляторний характер і може реалізуватися через викликані конформаційні зміни мембранних рецепторних і ферментних комплексів.

3. Зміни в системах рецепторів та циклічних нуклеотидів під впливом 12-краун-4 та йонізувального випромінювання є причиною і відображенням дисметаболических явищ.

Література

1. Жуков В.І., Мітряєв А.Б., Кратенко Р.І. // УРЖ. — 2002. — Т. X, вип. 1. — С. 37–40.
2. Кратенко Р.І., Мітряєв А.Б. // Там же. — 2002. — Т. X, вип. 2. — С. 167–170.
3. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. *Рецепторы физиологически активных веществ.* — М.: Медицина, 1987. — 400 с.
4. Кратенко Р.И. *Биологическая активность краунэфиров в связи с проблемой охраны водных объектов.* — Харьков: ХГМУ, 2001. — 207 с.
5. Федоров Н.А., Радуловацкий М.Г., Чехович Г.Е. *Циклические нуклеотиды и их аналоги в медицине.* — М.: Медицина, 1990. — 176 с.
6. Аджаяев Е.В., Северин Е.С. // *Биоорг. хим.* — 1987. — Т. 13, № 9. — С. 1157–1163.
7. Ross E.M., Gilman A. // *Achiev. and revel. in biochem.* — 1980. — Vol. 49, № 4. — P. 533–564.
8. Глебов Р.Н., Крыжановский Г.Н. *Функциональная биохимия синапсов.* — М.: Медицина, 1978. — 325 с.
9. Ланг С.М., Уилсон Р.П. // *Лаб. жив.* — 1993. — Т. 3, № 2. — С. 100–101.
10. Hajosh F. // *Brain. research.* — 1975. — Vol. 93, № 3. — P. 485–489.
11. Peroutka S.J., Snyder S.N. // *Molec. pharm.* — 1979. — Vol. 16, № 6. — P. 687–689.
12. U'Prichard D., Greenberg D., Snyder S.N. // *Ibid.* — 1977. — Vol. 13, № 3. — P. 454–473.
13. Bylund D.B., Snyder S.H. // *Ibid.* — 1979. — Vol. 15, № 5. — P. 568–580.
14. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randal R.J. // *Jour. of biol. chem.* — 1951. — Vol. 193, № 2. — P. 265–275.
15. Scatchard G. // *An. New-York Acad. Scien.* — 1949. — Vol. 51, № 4. — P. 660–672.
16. Hill A.V. // *Bioch. istry journ.* — 1913. — Vol. 7, № 5. — P. 471–480.
17. Rosenthal H.E. // *Anal. biochem.* — 1967. — Vol. 20, № 4. — P. 525–532.
18. Юдаев Н.А., Афиногенова С.А., Казеев К.Н., Жукова Т.В. // *Биохим.* — 1981. — Т. 46, № 1. — С. 55–61.
19. Чирков Ю.Ю., Тыщук И.А., Белушкина Н.Н., Северина И.С. // *Там же.* — 1987. — Т. 52, № 6. — С. 956–963.
20. Kuo J.F., Shoji M., Brackett N.L., Helfman D.M. // *Journ. of cyclic nucl. res.* — 1978. — Vol. 4, № 3. — P. 463–474.

Дата надходження: 25.03.2003.

Адреса для листування:
Кратенко Роман Іванович,
Харківський державний медичний університет,
пр-т Леніна, 4, Харків, 61022, Україна