

УДК 576.314:612.35:577.152.39

**АТФ-азна АКТИВНІСТЬ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТІВ ЩУРІВ ЗА ДІЇ НИКОТИНАЦИДАДЕНІДИНУКЛЕОТИДФОСФАТУ**

**М. Вергун, С. Бичкова**

*Львівський національний університет імені Івана Франка  
вул. Грушевського, 4, Львів 79005, Україна  
e-mail: s.bychkova@gmail.com*

У статті вивчали вплив нікотинацидаденідинуклеотидфосфату (НААДФ) на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів. Нами виявлено статистично достовірне зменшення питомої  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азної активності мікосомальної фракції на  $(59,53 \pm 8,85)\%$ , ( $p=0,05$ ,  $n=7$ ) за дії НААДФ. Також встановлено, що НААДФ знижує базальну  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів на  $(66,68 \pm 8,42)\%$ , ( $p=0,001$ ,  $n=9$ ) щодо контролю. Однак показано, що питома  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азна активність мікосомальної фракції за дії НААДФ зростає на  $(71,65 \pm 6,43)\%$  ( $p=0,017$ ,  $n=8$ ). Висловлено припущення, що вивільнений за дії НААДФ кальцій активно транспортується  $\text{Ca}^{2+}$ -помпами, як ендоплазматичного ретикулуму, так і плазматичної мембрани, що передбачає тісну локалізацію рецепторів НААДФ та  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз у мембранах гепатоцитів щурів.

*Ключові слова:* НААДФ, АТФ-азна активність, гепатоцити, мікосомальна фракція.

Відомо, що нікотинацидаденідинуклеотидфосфат (НААДФ) здатний вивільнювати  $\text{Ca}^{2+}$  з депо, а тому відіграє ключову роль у формуванні внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$ -сигналу і бере безпосередню участь у регуляції цілої низки клітинних процесів [11]. Природа НААДФ-чутливого рецептора, його розташування усередині клітини та механізми активації вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  інтенсивно вивчаються [див. огляди 6, 15, 17]. На сьогодні накопичилися докази того, що НААДФ опосередковує вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з ендолізосомальної системи через активування нової родини проникних для  $\text{Ca}^{2+}$  каналів, що мають назву – двопорові канали (TRPs) [12]. Незважаючи на велику кількість доказів на підтримку TRPs як каналу, що регулюється НААДФ, нещодавно з'явилися публікації, які постулюють, що TRPs є  $\text{Na}^+$ -каналами, які регулюють ендолізосомні ліпіди, зокрема, фосфатидилінозитол 3,5-бісфосфат [23], а також метаболічний стан клітини (через АТФ і mTOR- mammalian target of rapamycin) [7]. Окрім вищезгаданих двопорових каналів, було запропоновано низку інших іонних каналів, за допомогою яких НААДФ викликає  $\text{Ca}^{2+}$  сигнали, зокрема, білки TRP-ML1 (transient receptor potential-mucolipin-1) [24] і TRPM2 (transient potential receptor melastatin-2) [21], що розміщені у лізосомах, а також ріанодинові рецептори (RyRs) ендоплазматичного ретикулуму [13].

Нами показано, що активування RyRs мікосомальної фракції гепатоцитів викликає підвищення активності базальної  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-ази і  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази [4]. Ми припустили, що активування RyRs може бути пов'язане зі збільшенням вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  в ацидофільному депо гепатоцитів за рахунок тісної локалізації мембран ендоплазматичного ретикулуму й органел ендолізосомальної системи [4].

Вивчення впливу НААДФ на АТФ-азну активність дасть змогу пролити світло на локалізацію НААДФ-чутливого рецептора та порівняти особливості його взаємодії з АТФ-  
© Вергун М., Бичкова С., 2014

азами мембран гепатоцитів стосовно інших типів каналів вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$ . Тому ми ставили за мету дослідити, як впливає НААДФ на активність АТФ-аз мембран гепатоцитів щурів.

#### Матеріали та методи

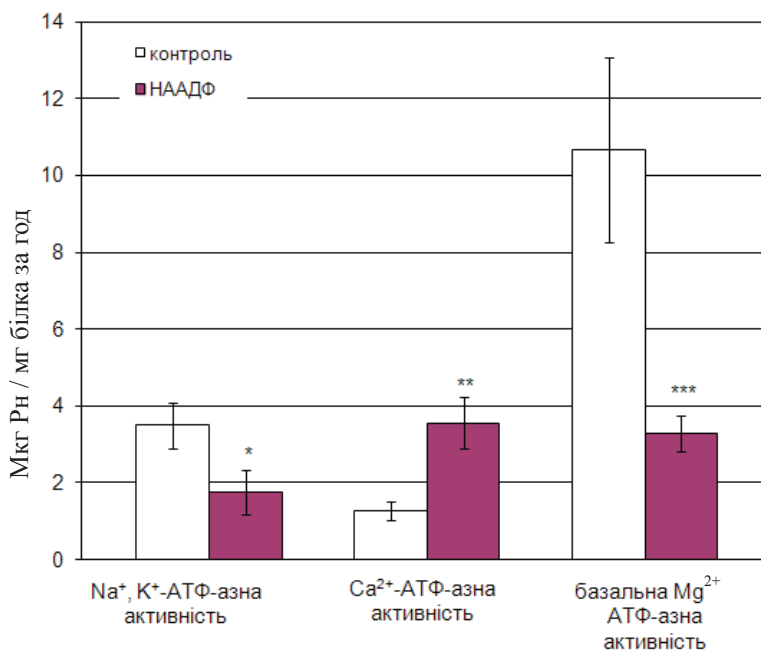
Досліди виконували на нелінійних щурах масою 180–200 г. Тварин утримували у стаціонарних умовах віварію за постійної температури, освітлення та на основному раціоні. Декапітацію здійснювали в лабораторії, ізольовано від інших тварин. Відпрепаровану печінку короткочасно перфузували середовищем гомогенізації (буферним розчином), який містив (у ммоль/л): сахарозу – 250,0; ЕДТА – 1,0; тріс/НСІ – 10,0 (рН=7,4,  $t=4^{\circ}\text{C}$ ). Охолоджену тканину подрібнювали, пропускаючи через прес. До подрібненої тканини додавали буферний розчин (у масовому співвідношенні 1:8) і гомогенізували в гомогенізаторі Поттера - Евельгейма при швидкості 300 об/хв у буферному розчині. Фракцію мікросом гепатоцитів отримували методом диференційного центрифугування, суть якого полягає у проведенні серії послідовних центрифугувань суміші органел і мембранних фрагментів, одержаних при гомогенізуванні тканини. Одержаний пост'ядерний і -мітохондріальний супернатант, який містив переважно плазматичні та ретикулярні мікросоми, розділяли на аліквоти й використовували в експерименті або зберігали за температури  $-20^{\circ}\text{C}$ . На початку експерименту аліквоти мікросом розморожували та переносили у стандартне середовище інкубації без АТФ, яке містило (у ммоль/л):  $\text{NaCl}$  – 50,0;  $\text{KCl}$  – 100,0; тріс/НСІ – 20,0;  $\text{MgCl}_2$  – 3,0;  $\text{CaCl}_2$  – 0,01; АТФ – 3,0; рН=7,4 при  $37^{\circ}\text{C}$ . АТФ-гідролазну ферментативну активність мікросомальної фракції оцінювали так, як це описано раніше [1, 4]. Для порівняння розподілу параметрів вибірок застосовували метод Манна-Вітні (U-критерій Вілкоксона-Манна-Вілкоксона), а вірогідними вважали зміни за рівня значущості  $p < 0,05$  [3].

#### Результати і їхнє обговорення

Мікросомальна фракція гепатоцитів, що використана нами у дослідженнях, є доволі гетерогенною системою. Тобто вона включає в себе міхурці різноманітного походження: ендоплазматичний ретикулум, плазматичну мембрану, апарат Гольджі, ендолізосомальну систему [14]. Ми звернули увагу на те, що  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-аза, окрім локалізації у плазматичній мембрані, у значній кількості наявна у кислих внутрішньоклітинних везикулах [9], де вона регулює рН через зміну трансмембранного потенціалу цих органел [15]. Виявлено, що  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-аза підсилює позитивний мембранний потенціал у люмені, гальмуючи закачування протонів [15]. Отже, функціонування  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -помпи, окрім плазматичної мембрани, також пов'язане з мембранами ранніх і пізніх ендосом, лізосом, секреторних гранул, апарату Гольджі [15]. Ендолізосомальна система включає лізосоми, які містять велику кількість гідролітичних ферментів і ендосоми, які утворюються внаслідок інвагінацій плазмалеми. Ці органоди містять значну концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$ , яка, за різними даними, може досягати від 0,5 до 1 мМ [18]. Крім того, ендолізосомальні везикули належать до кислотного депо у зв'язку із кислим вмістом. Показано, що закислення цього депо здійснює АТФ-аза V-типу [10], створюючи на мембрані протонний градієнт. Вважають, що транспорт  $\text{Ca}^{2+}$  всередину ендолізосомальної системи пов'язаний із градієнтом протонів через систему обмінників ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{H}^+$ -обмінник спряжений з  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ - обмінником).

Ми припустили, що НААДФ - індуковане вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  мало би впливати на роботу  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -помпи. НААДФ використовували у концентрації 7 мкмоль/л, що відповідає супрамаксимальному діапазону [14]. Для інтактних клітин зазвичай використовують наномольний діапазон [19]. Ми хотіли досягти ефективного НААДФ-індукованого вивільнення кальцію із депо шляхом активування всіх можливих НААДФ-рецепторів. Здебіль-

шого це стосується TRP-родини катіонних каналів, зокрема для TRPM2-каналів, для яких показано, що саме високі концентрації НААДФ здатні модулювати їхні ворітні механізми [15]. Питоме значення активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -помпи вираховували як різницю між сумарною АТФ-азною активністю й АТФ-азною активністю мікросомальної фракції за присутності 1 ммоль/л оубаїну – блокатора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази. Встановлено (див. рисунок), що за дії НААДФ питома  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ - АТФ-азна активність становила  $(1,76 \pm 0,59)$  мкмоль  $\text{P}_i$  / мг білка за год. Це становить  $(25,04 \pm 5,79)\%$  від загальної АТФ-азної активності за дії НААДФ і є меншим від значень контролю на  $(59,53 \pm 8,85)\%$ , ( $p=0,05$ ,  $n=7$ ). Попередньо було встановлено [4], що активування  $\text{RyRs}$  підвищує активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -помпи. Можна зробити висновок, що локалізація  $\text{RyRs}$  та НААДФ-чутливих рецепторів пов'язана з мембранами різних внутрішньоклітинних органел.



Вплив НААДФ на АТФ-азну активність мікросомальної фракції гепатоцитів щурів: \* –  $P \leq 0,05$ ; \*\* –  $P \leq 0,01$ ; \*\*\* –  $P \leq 0,001$  щодо контролю.

Якщо припустити, що гіпотетичний НААДФ-рецептор локалізований на мембранах ендоплазматичного ретикулуму чи тісно споріднених із ним мембранах, тоді НААДФ мав би впливати на активність  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азних систем мікросомальної фракції гепатоцитів щурів. Питоме значення  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азної активності вираховували як різницю між АТФ-азною активністю в середовищі з ЕГТА (1 ммоль/л) та без ЕГТА за одночасної наявності оубаїну (1 ммоль/л). Встановлено, що  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азна активність за дії НААДФ у середньому становила  $(3,56 \pm 0,67)$  мкмоль  $\text{P}_i$  / мг білка за 1 год, тобто  $(49,40 \pm 5,41)\%$  від загальної АТФ-азної активності за дії НААДФ. Порівнявши до значень контролю, ми виявили статистично достовірне збільшення  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азної активності за дії НААДФ на  $(71,65 \pm 6,43)\%$  ( $p=0,02$ ,  $n=6$ ) (див. рисунок). Отже, вивільнений за дії НААДФ кальцій безпосередньо стимулює  $\text{Ca}^{2+}$ -помпи. Це можливо лише за рахунок тісної колокалізації між  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азами та НААДФ-рецепторами в одних і тих же мембранах, або за рахунок контакту між мембранами ендоплазматичного ретикулуму та ендолізосомального депо, з яких НААДФ може

вивільнювати кальцій. Такий морфологічний зв'язок, що реалізується за участю певних білків, виявлено для різних типів клітин: для ооцитів морського їжака, де певна кількість ацидофільних гранул є зчепленими з цистернами ЕПР [16], також і для клітин ссавців [8, 20]. Припущення про спорідненість мембран не є новою. Класичним прикладом, що ілюструє контакти різних органел, є зв'язки сарколеми та цистерн саркоплазматичного ретикулу скелетних м'язів. Тут формуються з'єднання, відомі як діади і тріади, за рахунок білка юнктофіліну [22]. Саме ця ділянка тісного контакту опосередковує процес спряження збудження-скорочення [22]. Очевидно, між ендоплазматичним ретикуломом і ендо-лізосомальним депо формується певний морфологічний контакт, який зберігається навіть після отримання мікросомальної фракції методом центрифугування. Була виявлена низка білків, що реалізують подібний фізичний контакт. Наприклад, зв'язок між пізніми ендосомами і ендоплазматичним ретикуломом здійснюють білки Rab7 і RILP (Rab-interacting lysosomal protein) на пізніх ендосомах і білок VAP (vesicle-associated membrane protein) на мембранах ендоплазматичного ретикулу [20].

Ще однією системою активного транспорту йонів у клітинах, діяльність якої пов'язують як з плазматичною мембраною, так і з мембраною кислих депо, є базальна  $Mg^{2+}$ -АТФ-аза [2]. Показано, що робота базальної  $Mg^{2+}$ -АТФ-ази асоційована з протонною помпою [1]. Ми виявили, що за дії НААДФ базальна  $Mg^{2+}$ -АТФ-азна активність мембран гепатоцитів щурів становила  $(3,29 \pm 0,48)$  мкмоль  $P_i$ /мг білка за 1 год. Порівняно з контролем, це значення статистично достовірно нижче на  $(66,680 \pm 8,42)\%$ , ( $p=0,001$ ,  $n=8$ ) (див. рисунок). Показано [15], що за дії НААДФ спостерігається залуження люмену ендо-лізосомальних органелів. Це буде безпосередньо впливати на протонну помпу і опосередковано пригнічуватиме активність базальної  $Mg^{2+}$ -АТФ-ази ацидофільних депо. Отже, виявлене нами зниження активності базальної  $Mg^{2+}$ -АТФ-ази за дії НААДФ підтверджує той факт, що рецептор НААДФ локалізований на мембранах кислих органелів. Отримані нами результати ефекту НААДФ виявилися цілком протилежні до раніше виявленого впливу ріанодину та  $IF_3$  на базальну  $Mg^{2+}$ -АТФ-азну активність мікросомальної фракції гепатоцитів щурів [1]. Це ще раз підтверджує, що локалізація НААДФ-чутливих рецепторів пов'язана з іншими  $Ca^{2+}$ -депо, які є протилежними до тих, у яких локалізовані  $IF_3$ -чутливих  $Ca^{2+}$ -каналів та RyRs. Якщо розміщення останніх пов'язують головним чином з ендоплазматичним ретикуломом, то, найімовірніше, рецептори НААДФ є на ацидофільному депо.

Таким чином, ми встановили, що НААДФ, вивільнюючи  $Ca^{2+}$  з мікросомальної фракції гепатоцитів, зменшує активність базальної  $Mg^{2+}$ -АТФ-ази й активність  $Na^+$ ,  $K^+$ -помпи і одночасно викликає зростання  $Ca^{2+}$ -АТФ-азної активності. Ми висловили припущення, що НААДФ-чутливі рецептори локалізовані на ендо-лізосомальному депо, окремі структури якого пов'язані з ендоплазматичним ретикуломом.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Бичкова С., Чорна Т. Вплив  $IF_3$  на АТФ-азну активність мембранних везикул гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсуліновим розчином // Біологічні Студії / *Studia Biologica*. 2012. Т. 6. № 1. С. 47–54.
2. Костерін С. О., Векліч Т. О., Прилуцький Ю. І., Бориско П. О. Кінетичне тлумачення рН-залежності ферментативної активності «базальної»  $Mg^{2+}$ -АТФ-ази сарколеми гладенького м'яза // *Укр. біохім. журнал*. 2005. Т. 77. № 6. С. 37–45.
3. Лапач С. Н., Губенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в методико-биологических исследованиях с использованием Excel. К.: Морион, 2000. 320 с.

4. Чорна Т., Бичкова С. Вплив ріанодину на АТФ-азну активність мембран гепатоцитів щурів після перфузування печінки інсуліновим розчином // Вісн. Львів. ун-ту. Сер. біол. 2011. Вип. 55. С. 170–178.
5. Bhatnagar V., Ramalah A. Characterization of  $Mg^{2+}$ -ATPase activity in isolated B16 murine melanoma melanosomes // Mol. Cell Biochem. 1998. Vol. 189. P. 99–106.
6. Бучкова С.  $Ca^{2+}$  releasing process and nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate // Біологічні Студії / Studia Biologica. 2013. Т. 7. № 2. С. 195–206.
7. Chunlei C., Zhou Y., Navarro B. et al. mTOR Regulates Lysosomal ATP-Sensitive Two-Pore  $Na^{+}$  Channels to Adapt to Metabolic State // Cell. 2013. Vol. 152. N 4. P.778–790.
8. Eden E. R., White I. J., Tsapara A., Futter C. E. Membrane contacts between endosomes and ER provide sites for PTP1B-epidermal growth factor receptor interaction // Nat. Cell Biol. 2010. Vol. 12. N 3. P. 267–272.
9. Feldmann T., Glukmann V., Medvenev E. Role of endosomal  $Na^{+}$ - $K^{+}$ -ATPase and cardiac steroids in the regulation of endocytosis // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2007. Vol. 293. P. 885–896.
10. Huss M., Wiczorek H. Inhibitors of V-ATPases: old and new players // J. Exp. Biol. 2009 Vol. 212(Pt 3). P. 341–346.
11. Galione A., Parrington J., Funnell T. Physiological roles of NAADP-mediated  $Ca^{2+}$  signaling // Sci. China. Life. Sci. 2011. Vol. 54. N 8. P. 725–732.
12. Galione A., Morgan A. J., Arredouani A. et al. NAADP as an intracellular messenger regulating lysosomal calcium-release channels // Biochem. Soc. Trans. 2010. Vol. 38. P. 1424–1431.
13. Kinnear N. P., Wyatt C. N., Clark J. H. et al. Lysosomes co-localize with ryanodine receptor subtype 3 to form a trigger zone for calcium signalling by NAADP in rat pulmonary arterial smooth muscle // Cell. Calcium. 2008. Vol. 44. N 2. P. 190–201.
14. Mandi M., Toth B., Timar G. et al.  $Ca^{2+}$  release triggered by NAADP in hepatocyte microsomes // Biochem. J. 2006. Vol. 395. N 2. P. 233–238.
15. Morgan A. J., Platt F. M., Lloyd-Evans E. et al. Molecular mechanisms of endolysosomal  $Ca^{2+}$  signalling in health and disease // Biochem. J. 2011. Vol.439. P. 349–374.
16. Morgan A. J., Davis L. C., Wagner S. K. et al. Bidirectional  $Ca^{2+}$  signaling occurs between the endoplasmic reticulum and acidic organelles // J. Cell Biol. 2013. Vol.18. N 200(6). P. 789–805.
17. Patel S., Marchant J. S., Brailoiu E. Two-pore channels: Regulation by NAADP and customized roles in triggering calcium signals // Cell Calcium. 2010. Vol. 47. N 6. P. 480–490.
18. Patel S., Docampo R. Acidic calcium stores open for business: expanding the potential for intracellular  $Ca^{2+}$  signaling // Trends. Cell Biol. 2010. Vol. 20. N 5. P. 277–286.
19. Petersen O. H., Gerasimenko O. V., Tepikin A. V. et al. Aberrant  $Ca^{2+}$  signalling through acidic calcium stores in pancreatic acinar cells // Cell Calcium. 2011. Vol. 50. Iss. 2. P. 193–199.
20. Rocha N., Kuijl C., van der Kant R. et al. Cholesterol sensor ORP1L contacts the ER protein VAP to control Rab7–RILP–p150 Glued and late endosome processing // J. Cell Biol. 2009. Vol. 185. P. 1209–1225.
21. Sumoza-Toledo A., Penner R. TRPM2: a multifunctional ion channel for calcium signaling // J. Physiol. 2011. Vol. 589. N (Pt 7). P. 1515–1525.
22. Takeshima H., Komazaki S., Nishi M. et al. Junctionophilins: a novel family of junctional membrane complex proteins // Mol. Cell. 2000. Vol. 6. P. 11–22.
23. Wang X., Zhang X., Dong X. P. et al. TPC proteins are phosphoinositide- activated sodium-selective ion channels in endosomes and lysosomes // Cell. 2012. Vol. 151. N 2. P. 372–383.

24. Zhang F., Xu M., Han W. Q., Li P. L. Reconstitution of lysosomal NAADP-TRP-ML1 signaling pathway and its function in TRP-ML1(-/-) cells // Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 2011. Vol. 301. N 2. P. C421–30.

Стаття: надійшла до редакції 27.09.13

прийнята до друку 20.02.14

## ATPase ACTIVITY OF RAT HEPATOCYTES MEMBRANE UNDER THE INFLUENCE OF NICOTINIC ACID ADENINE DINUCLEOTIDE PHOSPHATE

M. Vergun, S. Bychkova

Ivan Franko National University of Lviv  
4, Hrushevskiy St., Lviv 79005, Ukraine  
e-mail: s.bychkova@gmail.com

This paper studied the effect of nicotinic acid adenine dinucleotide phosphate (NAADP) on rat hepatocytes membranes ATPase active. We found a statistically significant reduction of specific  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity of microsomal fraction by  $(59,53 \pm 8,85)\%$ , ( $p=0,05$ ,  $n=7$ ) at presence of NAADP. Also, it was found that NAADP reduces basal  $\text{Mg}^{2+}$ -ATPase activity of rat hepatocytes membranes by  $(66,68 \pm 8,42)\%$ , ( $p=0,001$ ,  $n=9$ ). However, it is shown that the specific  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of microsomal fraction under the actions of NAADP increases by  $(71,65 \pm 6,43)\%$  ( $p=0,017$   $n=8$ ). It is speculated that NAADP-released calcium is actively transported by  $\text{Ca}^{2+}$ -pumps as the endoplasmic reticulum and also by pumps of the plasma membrane and that require close localization of NAADP receptors and  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase in membranes of rat hepatocytes.

*Keywords:* NAADP, ATPase activity, hepatocytes, microsomal fraction.

## АТФ-азная АКТИВНОСТЬ МЕМБРАН ГЕПАТОЦИТОВ КРЫС ПРИ ДЕЙСТВИИ НИКОТИНАЦИДАДЕНИНДИНУКЛЕОТИДФОСФАТА

М. Вергун, С. Бычкова

Львовский национальный университет имени Ивана Франко  
ул. Грушевского, 4, Львов 79005, Украина  
e-mail: s.bychkova@gmail.com

В статье изучали влияние никотинацидадениндинуклеотидфосфата (НААДФ) на АТФ-азную активность мембран гепатоцитов крыс. Нами выявлено статистически достоверное уменьшение удельной  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-азной активности микросомальной фракции на  $(59,53 \pm 8,85)\%$ , ( $p=0,05$ ,  $n=7$ ) под действием НААДФ. Также установлено, что НААДФ снижает базальную  $\text{Mg}^{2+}$ -АТФ-азную активность мембран гепатоцитов крыс на  $(66,68 \pm 8,42)\%$ , ( $p=0,001$ ,  $n=9$ ) относительно контроля. Однако показано, что удельная  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азная активность микросомальной фракции под действием НААДФ возрастает на  $(71,65 \pm 6,43)\%$ , ( $p=0,017$ ,  $n=8$ ). Высказано предположение, что освободившийся при действии НААДФ кальций активно транспортируется  $\text{Ca}^{2+}$ -насосами как эндоплазматического ретикулума, так и плазматической мембраны, что предусматривает тесную локализацию рецепторов НААДФ и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-аз в мембранах гепатоцитов крыс.

*Ключевые слова:* НААДФ, АТФ-азная активность, гепатоциты, микросомальная фракция.