

УДК: 577.352+597.551.2-131+615.28

**Na⁺, K⁺-АТФ-АЗНА АКТИВНІСТЬ ЗАРОДКІВ В'ЮНА *IN VITRO* ЗА ВПЛИВУ
ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНОГО ПОЛІМЕРУ**

О. Яремкевич, М. Перун*, М. Целевич*, О. Заїченко**,
В. Новіков**, Д. Санагурський***

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

**Національний університет "Львівська політехніка"
вул. С. Бандери, 12, Львів 79013, Україна
e-mail: ilenkova@polynet.lviv.ua

Досліджено *in vitro* вплив міцелоутворюючої поверхнево-активної речовини (НВП-ВА-МА) на активність Na⁺, K⁺-активованої, Mg²⁺-залежної аденозинтрифосфатази зародків в'юна на ранніх етапах ембріогенезу. Проведено оцінку впливу різних концентрацій новосинтезованого водорозчинного полімеру на ферментативну активність Na⁺, K⁺-помпи плазматичних мембран зародків в'юна протягом періоду синхронного дроблення бластомерів на основі визначених констант напівінгібування I₅₀. Встановлено, що НВП-ВА-МА (0,1÷100 мкмоль/л) дозозалежно інгібує Na⁺, K⁺-АТФ-азну активність на стадіях 2, 16, 64 бластомерів та 8-го поділу, а на стадії 10-го поділу бластомерів дія 0,1 мкмоль/л полімеру приводить до протилежних змін – зростання активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази. Інгібування Na⁺, K⁺-АТФ-ази полімером НВП-ВА-МА зумовлене його емульгуючими та сенсibiliзуючими властивостями, що, у свою чергу, спричинює порушення іонного гомеостазу та метаболічних процесів зародків упродовж ембріогенезу.

Ключові слова: поверхнево-активні полімери, плазматична мембрана, Na⁺, K⁺-АТФ-аза, зародки в'юна, поділ бластомерів.

На сьогодні в медицині все більша увага приділяється біологічним полімерним речовинам, котрі можна використовувати у фармацевтичній промисловості і як лікарські, і як допоміжні засоби – фізіологічно активні полімери (ФАП), здатні впливати на обмінні процеси у клітинах, органах або організмі загалом. Використання таких ФАП є перспективним напрямом у створенні нових лікарських субстанцій [16].

Відомо, що у фармацевтичній промисловості застосовують водорозчинні препарати, які повинні транспортувати лікарські речовини до органа-мішені і забезпечувати при цьому пролонгуючу дію та максимальний терапевтичний ефект. Виходячи з вищесказаного, особливу зацікавленість викликає створення водорозчинних полімерних препаратів із певними фізико-хімічними властивостями, які можуть солюбілізувати [8] водонерозчинні біологічно активні сполуки різної хімічної будови, які відрізняються між собою за бактеріоцидними, фунгіцидними та цитостатичними властивостями [19, 15, 27]. Тому є актуальним дослідження дії цих ФАП на активність мембранних ферментів зародкових клітин, плазматичні мембрани яких є важливим центром морфогенетичних перебудов у ранньому ембріогенезі та найпершою ланкою у сприйнятті різноманітних зовнішніх сигналів. Вважають, що в основі дії поверхнево-активних речовин на живі організми є порушення функціонального стану плазматичних мембран (ПМ), обмінних процесів, водно-сольового балансу клітини, взаємодія з рядом мембранних ферментів і

рецепторів [4, 7, 9, 17]. Однак остаточно механізм цього процесу донині залишається неповністю з'ясованим.

Одним із міцелотворюючих ФАП є новосинтезований на кафедрі органічної хімії НУ „ЛП” поверхнево-активний полімер – *N*-вінілпіролідон (ВВП)-вінілацетат (ВА)-малеїновий ангідрид (МА) (1:1:1) (аббревіатура ВВП-ВА-МА); хімічна структура зображена на рис. 1.

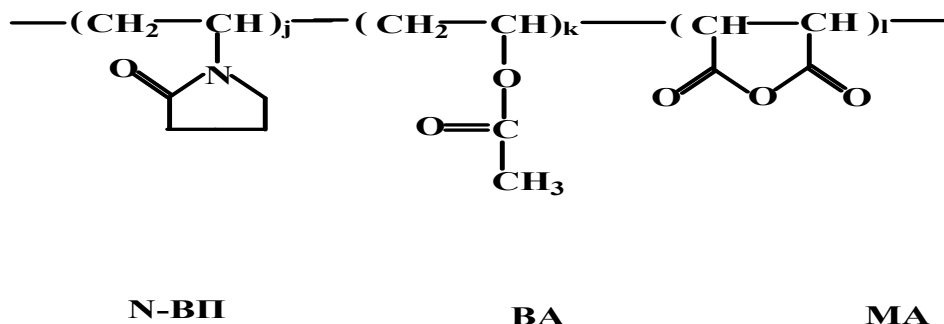


Рис. 1. Структурна формула поверхнево-активного полімеру ВВП-ВА-МА.

ПМ зародкових клітин є важливим центром морфогенетичних перебудов у ранньому ембріогенезі, забезпечуючи вибіркочувливості для речовин, що транспортуються, у процесі життєдіяльності клітини [5]. Транспорт іонів через мембрани не тільки є основою електрогенезу [1], але й суттєвим процесом регуляції багатьох клітинних функцій, включаючи ініціацію реплікації нуклеїнових кислот, біосинтез білка, проліферацію та диференціацію клітин [3, 25]. Більшість змін електричних параметрів зародкових клітин відбувається за рахунок змін властивостей іонтранспортних систем [5].

При вивченні механізмів дії чинників різноманітної природи значна увага приділяється особливостям їх взаємодії власне з ПМ, котра є найпершою ланкою у сприйнятті зовнішніх сигналів, проведенні та трансформації їх у клітинну відповідь. Одним із найбільш чутливих показників впливу різних чинників на стан ПМ є зміна функціонального стану іонтранспортних систем, у тому числі й АТФ-аз Р-типу. Na^+ , K^+ -АТФ-аза, котра поєднує транспортно-гідролітичну і рецепторну функції [25, 28], специфічно взаємодіє з екзогенними інгібіторами – серцевими глікозидами та їх аналогами [10]. Однак відомості про зміну активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази за умов впливу полімерних речовин є нечисленними.

Оскільки відомо, що зародки в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) у період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різних фармакологічних [20] та хімічних [2] чинників на живі організми, мета роботи полягала у з'ясуванні ймовірних механізмів впливу новосинтезованої полімерної речовини ВВП-ВА-МА на мембранозв'язані процеси зародків *in vitro* на різних етапах ембріогенезу: зміни Na^+ , K^+ -АТФ-азної активності на різних стадіях розвитку зародків в'юна. Оскільки характер змін досліджуваного мембранного ферменту внаслідок впливу зовнішніх факторів у період раннього ембріогенезу відображає зміни функціонального стану організму, зокрема, і ступінь життєздатності, тому може бути прогностичним показником у медицині та ветеринарії.

Дослідження проводили на зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) через 60, 150, 210, 270 і 330 хв після запліднення яйцеклітин під час стадій, які відповідають першому

дробленню зиготи (2 бластомери), четвертому (16 бластомерів), шостому (64 бластомери), восьмому (256 бластомерів) і десятому (512 бластомерів). Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі суспензією спермійів за Нейфахом [13]. Сім'яники отримували після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Через 5–10 хв після запліднення зиготи відмивали й інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера при температурі 20–22°C. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Мікросомну фракцію мембран зародків в'юна одержували методом диференційного центрифугування у градієнті густини сахарози, як було описано у статті М. Д. Луцка та ін. [11]. Зародки попередньо гомогенізували у буферному розчині такого складу (ммоль/л): сахароза – 120,0; КСl – 130,0; MgCl₂ – 5,0; тріс-НСl – 10,0 (рН 7,4; 4°C). Рештки зародкового жовтка осаджували центрифугуванням упродовж 10 хв при 1 600 g. Надосадову рідину, збагачену фрагментами плазматичної та ретикулярної мембран, одержану після центрифугування 10 хв при 10 000 g, зберігали при температурі -20°C [11].

Інкубацію супернатанту (0,1 мл) проводили 15 хв в 1 мл певного середовища при +21°C. Середовище інкубації для визначення загальної АТФ-азної активності містило (ммоль/л): NaCl – 125,0; КСl – 30,0; MgCl₂ – 3,0; СаCl₂ – 0,01; АТР-Na₂ – 3; тріс-НСl – 50,0 (рН 7,4; 21°C). Для визначення Na⁺, K⁺-АТФ-азної активності до середовища інкубації додавали 1 ммоль/л убаїну. В інкубаційне середовище, в якому визначали активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази, додавали розчини ЛВП-ВА-МА до кінцевої концентрації 0,1, 1, 10, 100 мкмоль/л.

Ферментативну реакцію ініціювали введенням у реакційне середовище суспензії мембранного препарату (0,1 мл), а зупиняли додаванням 10% ТХО. Активність Na⁺, K⁺-АТФ-азної системи досліджуваних клітин оцінювали за різницею вмісту неорганічного

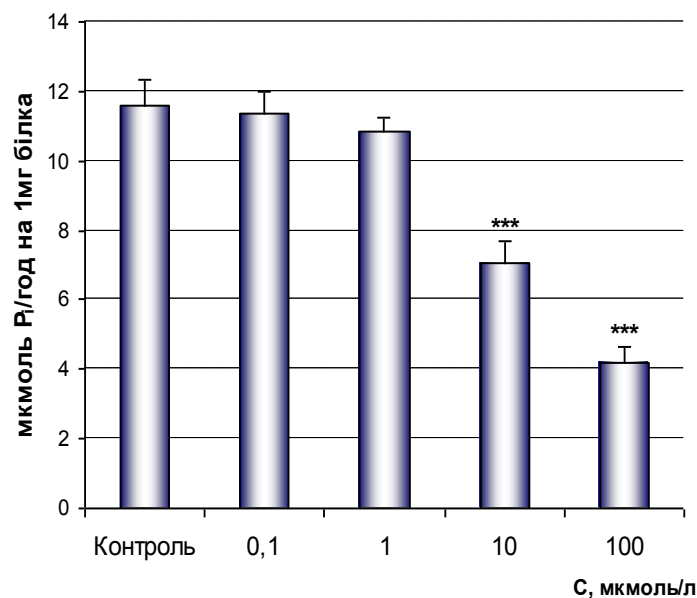


Рис. 2. Зміни активності Na⁺, K⁺-АТФази зародків за умов впливу полімеру на стадії розвитку 2 бластомерів: тут і далі ймовірні зміни порівняно з контролем * – p<0,05; ** – p<0,01; *** – p<0,001.

фосфату (P_i), що утворився в середовищі інкубації різного складу за наявності та відсутності фрагментів мембран з урахуванням поправки на вміст ендogenous P_i у мембранному препараті й виражали в мкмольх P_i у перерахунку за год на 1 мг білка. Кількість продукту реакції P_i визначали за модифікованим методом Фіске-Суббароу [12], вміст білка – за методом Лоурі [26]. Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів Microsoft Excel, достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стьюдента [6].

Для оцінки характеристики варіабельності змін активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків за умов дії полімеру *НВП-ВА-МА* визначено константи напівінгібування (I_{50}), шляхом лінеаризації одержаних кривих доза-ефект у логарифмічних координатах [23]. Числові значення I_{50} для досліджуваних факторів на різних стадіях розвитку визначали у точці перетину одержаних прямих з віссю абсцис. Обчислення лінеаризованих графіків проводили з використанням найменших квадратів (значення коефіцієнта кореляції r становило 0,90–0,99).

У результаті проведених досліджень встановлено, що *НВП-ВА-МА* (у концентраціях 0,1, 1, 10, 100 мкмоль/л) на досліджуваних стадіях розвитку веде до виражених змін активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків порівняно з контролем.

Активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичних мембран зародків на стадії 2 бластомерів становить $11,6 \pm 0,82$ мкмоль P_i /год на 1 мг білка ($n=10$). Встановлено, що дія досліджуваного полімеру у концентрації 10–100 мкмоль/л на стадії 2 бластомерів (рис. 2) призводить до зниження активності мембранозв'язаного ферменту порівняно з контролем на $39,3 \pm 3,6$ та $63,9 \pm 6,9\%$ відповідно.

Однак при внесенні в середовищі інкубації 1–0,1 мкмоль/л *НВП-ВА-МА* на досліджуваній стадії розвитку спостерігали менш виражені зміни активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази. За таких умов виявлено зниження активності досліджуваного ферменту зародків на

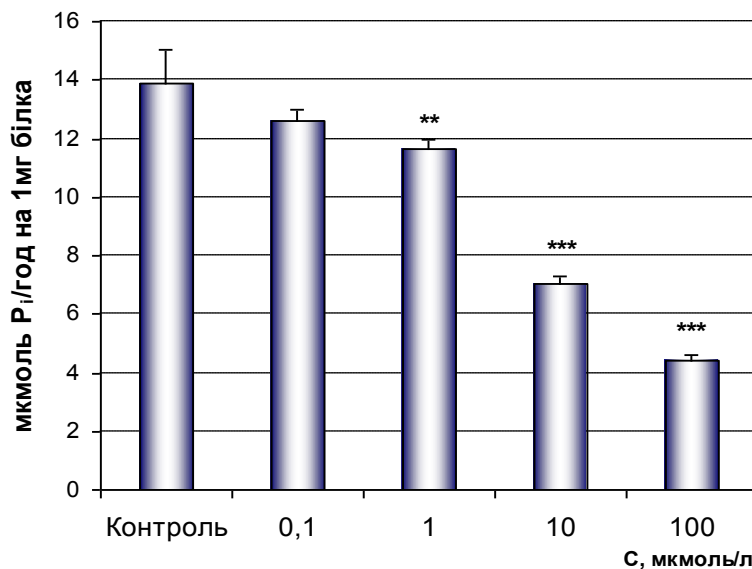


Рис. 3. Зміни активності Na^+ , K^+ -АТФази зародків за умов впливу полімеру на стадії розвитку 16 бластомерів.

6,7±0,6 та 2,4±0,1% відповідно порівняно з контролем (рис. 2). Тобто можна зазначити, що на стадії 2 бластомерів за дії 1–0,1 мкмоль/л *NP-BA-MA* достовірних змін активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків не виявлено.

На стадії розвитку 16 бластомерів (рис. 3), як і на попередній досліджуваній стадії, після внесення в середовище інкубації полімеру *NP-BA-MA* виявлено концентраційну залежність змін активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків порівняно з контролем (13,9±1,2 мкмоль P_i/год на 1 мг білка).

Показано, що за дії 10–100 мкмоль/л полімеру на досліджуваній стадії розвитку активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази становила 7,0±0,3 та 4,4±0,2 мкмоль P_i/год на 1 мг білка відповідно, що становить від 31,6 до 50,7% у контролі. Зменшення концентрації полімеру *NP-BA-MA* у середовищі інкубації зародків до 0,1–1 мкмоль/л вело до ймовірного (лише у першому випадку) зниження Na⁺, K⁺-АТФ-азної активності на 8,9±0,2 і 16,1±0,2% відповідно.

Na⁺, K⁺-АТФ-азна активність мембран зародків на стадії розвитку 64 бластомерів (рис. 4) при внесенні в стандартне Mg²⁺-вмісне середовище інкубації становить 15,3±0,9 мкмоль P_i/год на 1 мг білка. Показано, що за дії 10–100 мкмоль/л полімеру на досліджуваній стадії розвитку активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази становить у середньому 5,08±0,5 мкмоль P_i/год на 1 мг білка.

Зменшення концентрації полімеру *NP-BA-MA* у середовищі інкубації зародків до 0,1–1 мкмоль/л приводило до зниження Na⁺, K⁺-АТФ-азної активності на 25,9±0,2 та 47,3±0,2% відповідно.

Протягом п'яти годин розвитку (стадія 8 поділу бластомерів, рис. 5) уабайнчутлива АТФ-азна активність плазматичних мембран зародків зростала та досягала максимального значення і становила 17,9±0,7 мкмоль P_i/год на 1 мг білка.

На цій стадії розвитку внесення в середовище інкубації полімеру в вищезазначених досліджуваних концентраціях вело до подібних дозозалежних змін активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків, як і на попередніх стадіях розвитку.

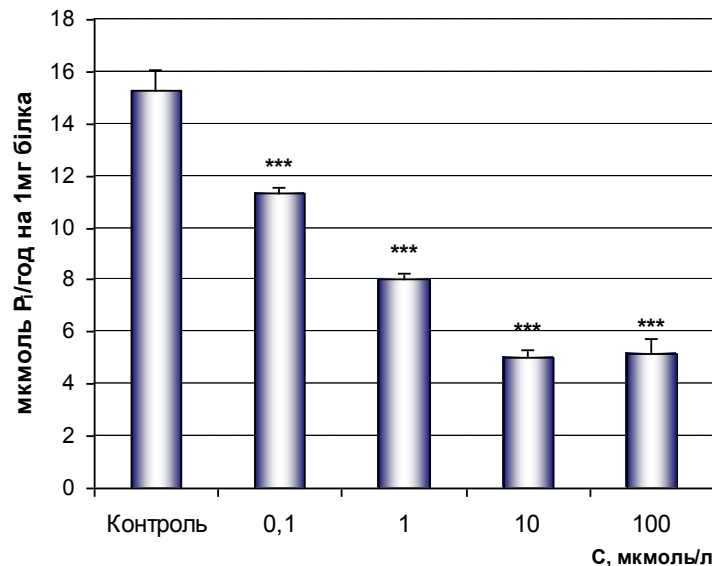


Рис. 4. Зміни активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків за умов впливу полімеру на стадії розвитку 64 бластомерів.

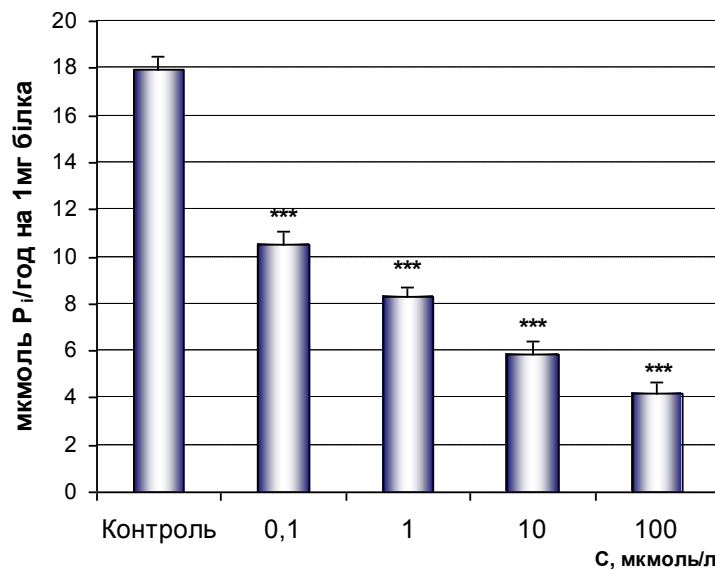


Рис. 5. Зміни активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків за умов впливу полімеру на 8 стадії поділу еластомерів.

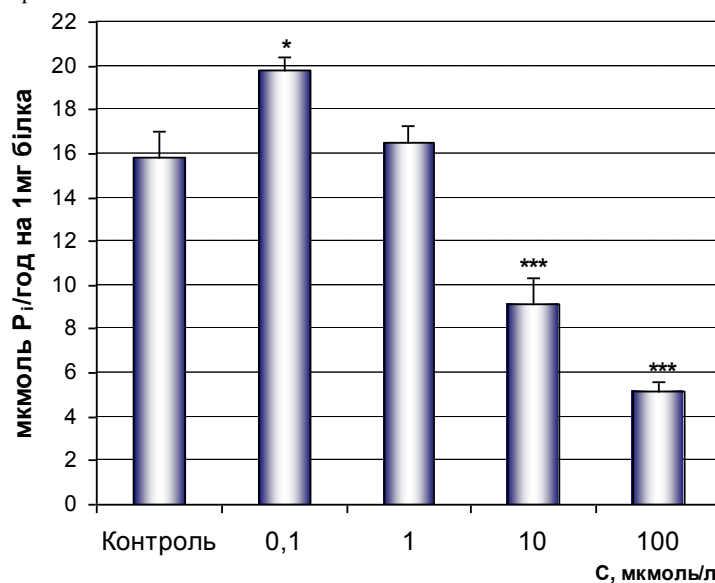


Рис. 6. Зміни активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків за умов впливу полімеру на 10 стадії поділу еластомерів.

Залежність змін ферментативної активності Na⁺, K⁺-помпи від концентрації досліджуваного полімеру набувала чіткого лінійного характеру. При дії 100 мкмоль/л ПАР активність Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків не перевищувала 4,2±0,4 мкмоль Pi/год на 1 мг білка, що становить 24% активності у контролі.

При найнижчій концентрації досліджуваної поверхнево-активної речовини (0,1 мкмоль/л) ферментативна активність Na⁺, K⁺-помпи зародків на досліджуваній ста-

дії розвитку знижується на $42,4 \pm 0,6\%$ (рис. 5). Величина питомої Mg^{2+} -залежної АТФ-гідролазної ферментативної активності за таких умов становить $10,5 \pm 0,6$ мкмоль P_i/год на 1 мг білка відповідно (58,5% активності за нормальних умов).

На стадії 10 поділу бластомерів (рис. 6) при дії 1 мкмоль/л *NBП-ВА-МА* спостерігається зростання активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків на $4,0 \pm 0,2\%$ порівняно з контролем, який становив $15,8 \pm 1,1$ мкмоль P_i/год на 1 мг білка. При подальшому зменшенні концентрації полімеру в середовищі інкубації до 0,1 мкмоль/л виявлено виражене достовірне зростання активності Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків на $24,8 \pm 0,8\%$ порівняно з контролем.

Відомо, що збільшення Na⁺, K⁺-АТФ-азної активності зародків в'юна зумовлює підвищення рівня трансмембранного потенціалу (ТМП) протягом раннього розвитку [5], які десинхронно наростають до 6-ї години розвитку.

У кінці синхронних поділів бластомерів (на стадії 10 поділу бластомерів, тобто на 6-й годині розвитку) проходить короточасне зниження рівня ТМП й ензиматичної активності Na⁺, K⁺-помпи [5], падає мітотичний індекс і зростає морфогенетична активність ядер, а всі біосинтетичні потребують перерозподілу пулів макроергів [13, 18]. До цього часу розвиток зародків здійснюється за рахунок генетичної інформації, яка нагромаджена материнським організмом, а всі біосинтетичні процеси потребують перерозподілу пулів макроергів [14]. Враховуючи структуру полімеру, ймовірно, в цей період відбувається полегшене вбудовування полімеру в плазматичну мембрану зародків, що і призводить до часткового активування роботи АТФ-ази.

Встановлено, що дія поверхнево-активного полімеру *NBП-ВА-МА* веде до взаємопротилежних змін активності мембранозв'язаного ферменту зародків на стадії 10 поділу бластомерів. Таким чином, ПАР можна віднести до дозозалежних модуляторів Na⁺, K⁺-активованого Mg^{2+} -залежного гідролізу АТФ, який здійснюється мембранними везикулами зародків, однак механізм їхньої дії достатньо не з'ясований, що потребує проведення подальших досліджень *in vivo*.

Порівняльний аналіз впливу полімерної речовини на Na⁺, K⁺-АТФ-азу проводили на основі визначених констант напівінгібування I₅₀ (рис. 7).

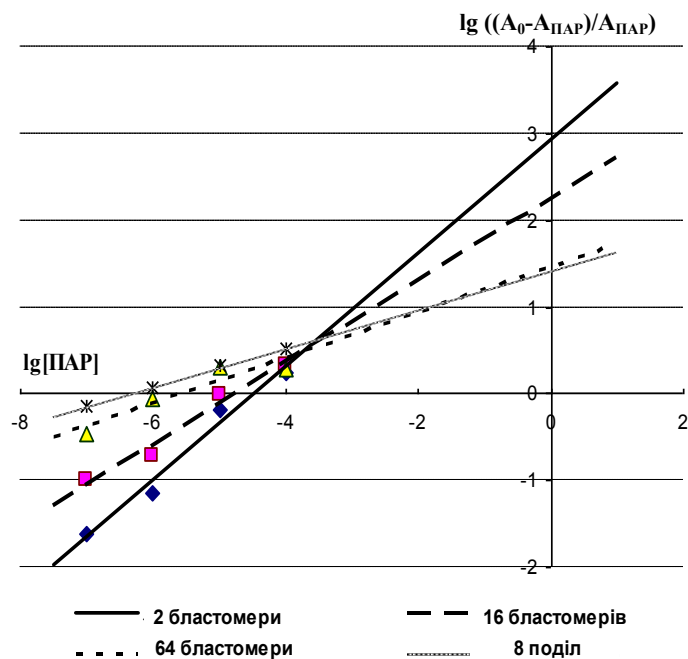


Рис. 7. Лінійаризація кривих інгібування полімеру *NBП-ВА-МА* Na⁺, K⁺-АТФ-ази зародків в'юна на стадіях 2, 16, 64 бластомерів та 8 поділу бластомерів у системі координат Хілла.

Значення констант напівінгібування I_{50} (М) Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна полімером NBП-ВА-МА на різних стадіях розвитку

Полімер	Стадії розвитку зародків в'юна			
	2 бластомери	16 бластомерів	64 бластомери	8 поділ
NBП-ВА-МА	$3,39 \cdot 10^{-5}$	$1,74 \cdot 10^{-5}$	$2,53 \cdot 10^{-6}$	$5,28 \cdot 10^{-7}$

Слід зазначити, що на різних етапах дроблення бластомерів чутливість (спорідненість) Na^+ , K^+ -АТФ-ази до дії полімерної речовини частково варіює.

Найвищі значення констант напівінгібування I_{50} , тобто найменший ступінь інгібування активності мембранного ферменту полімерною речовиною виявлено на стадіях розвитку 2 та 16 бластомерів (див. таблицю). Це, у свою чергу, свідчить про стійкість зародків до впливу полімеру. Стійкість, ймовірно, зумовлена перш за все тим, що частина молекул ФАП здатна утворювати великі за розмірами, міцні комплекси з молекулами інших речовин, що утруднює їх проходження крізь клітинну мембрану [17].

Найбільший інгібувальний вплив полімеру, тобто найнижчі значення I_{50} , характерні для стадії розвитку 64 бластомерів та 8 поділу. Це, як було зазначено вище, узгоджується з проходженням на даному етапі розвитку в зародкових клітинах біосинтетичних процесів, які потребують перерозподілу пулів макроергів. Доведено, що молекули поверхнево-активних полімерів впливають на функціональний стан цитоплазматичної мембрани за загальним механізмом – змінюють її проникність, порушують її цілісність, руйнуючи при цьому білки, і тим самим сприяючи виходові у середовище інкубації внутрішньоклітинних компонентів, а також пригнічують активність локалізованих у мембранах ферментів, впливаючи на вміст сульфгідрильних груп [17]. Тобто в цей момент розвитку зародки є надзвичайно чутливими до дії будь-яких зовнішніх чинників, і потрібна невелика кількість "інгібітора" в середовищі інкубації, щоб знизити активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази плазматичних мембран зародків на 50%.

Однак, на думку Біерса та Чапмана [21, 22], дія поверхнево-активних полімерів полягає не у зміні проникності клітинних мембран, а в особливостях їх взаємодії з мембраною та її складовими компонентами. Ймовірно, що певна частина міцелоутворюючих молекул NBП-ВА-МА може утворювати білково-ліпідні комплекси з фрагментами мікосомної фракції мембран зародків (або везикули), у яких Na^+ , K^+ -АТФ-аза буде функціонувати в нормальному режимі. Отже, цим можна пояснити незначне зростання (на 24%) активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази на стадії 10 поділу бластомерів зародків.

Таким чином, інгібування Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків в'юна на ранніх етапах ембріогенезу поверхнево-активною речовиною NBП-ВА-МА можна пояснити його емульгуючими та сенсibiliзуючими властивостями, здатністю порушувати цілісність мембрани, руйнуючи при цьому білки, порушувати обмінні процеси у зародках, знижуючи активність досліджуваного мембранного ферменту, а це, у свою чергу, підтверджує ембріотоксичність і тератогенність полімеру.

Роботу виконано за підтримки Державного Фонду Фундаментальних Досліджень (проект С.25.5/075).

1. Антонов В. Ф. Мембранный транспорт // Сорос. обозрев. журн. Биология. 1997. № 4. С. 2–9.
2. Бойко Н. М., Целевич М. В., Санагурський Д. І. Активність Na^+ , K^+ -АТФази мембран зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) за дії катіонів важких металів // Укр. біохім. журн. 2004. Т. 76. № 2. С. 59–63.

3. Веренинов А. А., Марохова И. И. Транспорт ионов у клеток в культуре. Л.: Наука, 1986. 292 с.
4. Волощенко О. И., Медяник И. А. Гигиена и токсикология бытовых химических средств. К.: Здоров'я, 1984. 144 с.
5. Гойда О. А. Биофизические аспекты раннего онтогенеза животных. К.: Наук. думка, 1993. 224 с.
6. Деркач М. П., Гумецький Р. Я., Чабан М. Е. Курс варіаційної статистики. К.: Вища шк., 1977. 208 с.
7. Зайцева О. В. Поверхнево-активні речовини як стимулятори вільнорадикальних процесів // Довкілля та здоров'я. 2000. № 2. С. 8–11.
8. Заярнюк Н., Солод М., Хом'як С., Червецова В. та ін. Одержання нових солюбілізаторів на основі алкістерів тіосульфанілової кислоти // Вісн. НУ «ЛП». Сер. хімія, технологія речовин та їх застосування. 2005. № 536. С. 72–77.
9. Кондратюк В. А., Гунько Л. М., Гнатюк М. С. та ін. Гігієнічне нормування додецилбензолсульфокислоти у воді водоєм // Довкілля та здоров'я. 2000. № 1. С. 6–9.
10. Лопина О. Д. Na⁺, K⁺-АТФ-аза: структура, механізм і регуляція активності // Біол. мембрани. 1999. Т. 16. № 6. С. 584–603.
11. Луцик М. Д., Лукьяненко А. В., Кусень С. И. Метод массового механического удаления оболочек из зародышей вьюна // Онтогенез. 1983. Т. 14. № 6. С. 386–388.
12. Методи біохімічних досліджень (ліпидний і енергетичний обмін): Учеб. посібник / Под ред. М.И. Прохоровой. Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. 272 с.
13. Нейфах А. А., Тимофеева М. Я. Проблемы регуляции в молекулярной биологии развития. М.: Наука, 1978. 336 с.
14. Озернюк Н. Д. Энергетический обмен в раннем онтогенезе рыб. М.: Наука, 1985. 175 с.
15. Петріна Р., Комаровська О., Новіков В. Підвищення біологічної активності та зниження токсичності лікарських препаратів солюбілізацією на полімерних носіях // Матеріали VI Національного з'їзду фармацевтів України. Харків, 2005. С. 359–360.
16. Петріна Р., Заярнюк Н., Комаровская-Порохнявец О. и др. Поверхностно-активные полимеры для создания новых лекарственных форм водонерастворимых алкалоидов // Органическая химия от Бутлерова и Бейльштейна до современности: Материалы конф. СПб, 2006. С. 778.
17. Проданчук М. Г., Мудрий І. В. Поверхнево-активні речовини в агропромисловому комплексі: еколого-гігієнічні аспекти. К.: Наук. думка, 2000. 128 с.
18. Ротт Н. Н. Клеточные циклы в раннем эмбриональном развитии. М.: Наука, 1987. 207 с.
19. Федорова О., Мітіна Н., Заярнюк Н., Комаровська О. та ін. Водорозчинні полімерні аддукти есулану з бактерицидними та антигрибковими властивостями // Вісн. НУ «ЛП». Сер. хімія, технологія речовин та їх застосування. 2004. № 516. С. 63–65.
20. Целевич М. В., Мандзинець С. М., Санагурський Д. І. Na⁺, K⁺-АТФ-азна активність мембран зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. при дії антибіотиків // Фізіол. журн. 2004. Т. 50. № 5. С. 64–68.
21. Byers S.O. Triton hypercholesteremia: cause or consequence of augmented cholesterol synthesis // Am. J. Physiol. 1963. Vol. 204. P. 1110–1114.
22. Chapman D. Dynamics of lipids in membranes: Heterogeneity and the role of cholesterol // FEBS Lett. 1972. Vol. 23. P. 285–288.

23. Chou T. C. Derivation and properties of Michaelis-Menten type and Hill type equations for reference ligands // J. Theor. Biol. 1976. Vol. 59. N 2. P. 253–276.
24. Geering K., McDonough A. A., Farley R. A. The sodium pump needs its beta subunit // FASEB J. 1990. Vol. 4. P. 1598–1605.
25. Husain M., Jiang L., See V. et al. Regulation of vascular smooth muscle cell proliferation by plasma membrane Ca^{2+} -ATPase // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 1997. Vol. 272. P. 1947–1959.
26. Lowry O. H., Rosebrough N. G., Farr A. L., Randall R. C. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. 1951. Vol. 193. N 1. P. 265–275.
27. Novikov V., Zaichenko A., Fedorova E., Petrina R. Oligomer surface-active and colloidal carriers for poor water soluble biocide transportation in aqueous media // Polymers of special applications: Abstracts of III Polish-Ukrainian conference. Poland, 2004. P. 15.
28. Vasilets L. A., Schwarz W. Structure-function relationships of cation binding in the Na^+ / K^+ -ATPase // Biochim. Biophys. Acta. 1993. Vol. 1154. N 2. P. 201–222.

**THE SURFACE-ACTIVE POLYMER INFLUENCE ON THE Na^+ , K^+ -ATP-ASE
ACTIVITY OF LOACH EMBRYOS *IN VITRO***

H. Yaremkevych, M. Perun*, M. Tselevych*, O. Zaichenko**,
V. Novikov**, D. Sanagurskyi***

*Ivan Franko National University of Lviv
4, Hrushevskiyi St., Lviv 79005, Ukraine
e-mail: mcelevych@yahoo.com

** Lviv National Polytechnic University
12, S. Bandera St., Lviv 79013, Ukraine
e-mail: ilenkova@polynet.lviv.ua

The influence of micelleforming surface-active substances NVP-VA-MA on the loach embryos Na^+ , K^+ -activated Mg^{2+} -dependent ATP-ase *in vitro* during the early stages embryogenesis was investigated. The half-inhibition constants (I_{50}) determinations can analysis of this enzyme activity Na^+ , K^+ -pump sensibility to the influence of surface-active polymer in different concentrations during the synchronous blastomer divisions. It has been detected, that the surface-active polymer NVP-VA-MA ($100 \pm 0,1 \mu\text{M}$) dose-dependent inhibited Na^+ , K^+ -ATP-ase activity at the stages of 2, 16, 64 blastomers and 8 blastomer divisions. But at the 10-th stages division of blastomers NVP-VA-MA in the concentration $0,1 \mu\text{M}$ activated Na^+ , K^+ -ATP-ase activity by comparison to the control. The polymer inhibition of the Na^+ , K^+ -ATP-ase activity has resulted in significant homeostasis ions abnormality and metabolic disorder of embryos during embryogenesis.

Key words: surface-active polymer, plasmatic membrane, Na^+ , K^+ -ATP-ase, loach embryos, blastomers divisions.

Стаття надійшла до редколегії 19.11.07

Прийнята до друку 06.06.08