

УДК. 576.342: 576.35+577.25.5+547.556.4+597.551.2-131

ВПЛИВ АМІНОКИСЛОТНИХ ПОХІДНИХ 1,4-НАФТОХІНОНУ НА АКТИВНІСТЬ Na^+ , K^+ -АТФази ТА ДИНАМІКУ ТРАНСМЕМБРАННОГО ПОТЕНЦІАЛУ ЗАРОДКІВ В'ЮНА

**А.Б. Генега, С.М. Мандзинець, М.В. Бура, Н.Г. Марінцова*, В.П. Новіков*,
Д.І. Санагурський**

*Львівський національний університет імені Івана Франка
Вул. Грушевського, 4, м. Львів, 79005, Україна
anastasiyah2@gmail.com*

**Національний університет «Львівська політехніка»
Вул. Ст. Бандери, 12, м. Львів, 79013, Україна*

Надійшла до редакції 21 грудня 2010 року

Прийнята 25 січня 2011 року

Вплив амінокислотної похідної 1,4-нафтохінону (аспарагіну) у концентраціях 10^{-5} – 10^{-7} М призводить до зниження активності Na^+ , K^+ АТФази зародків в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) на різних стадіях дроблення бластомерів. На стадії 10 поділу бластомерів за дії 2-аспарагін-3-хлор-1,4-нафтохінон в концентрації 10^{-10} М підвищує активність Na^+ , K^+ АТФази. Встановлено зміни й у динаміці трансмембранного потенціалу (ТМП) протягом дроблення бластомерів, що виражається у зменшенні амплітуди коливань та абсолютних значень ТМП.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: 1,4-нафтохінон, аспарагін, аланін, трансмембранний потенціал, активність Na^+ , K^+ АТФази, в'юни.

ВЛИЯНИЕ АМИНОКИСЛОТНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-НАФТОХИНОНА НА АКТИВНОСТЬ И ТРАНСМЕМБРАННЫЙ ПОТЕНЦИАЛ ЗАРОДЫШЕЙ ВЬЮНА

А.Б. Генега, С.М. Мандзинец, М.В. Бура, Н.Г. Маринцова*, В.П. Новиков*, Д.И. Санагурский

*Львовский национальный университет имени Ивана Франка
Ул. Грушевского, 4, г. Львов, 79005, Украина*

Национальный университет «Львовская политехника»

Ул. С. Бандери, 12, г. Львов, 79013, Украина

Влияние аминокислотной производной 1,4-нафтохинона (аспарагина) в концентрациях 10^{-5} - 10^{-7} М приводит к снижению активности Na^+ , K^+ -АТФазы зародышей вьюна (*Misgurnus fossilis* L.) на разных стадиях дробления бластомеров. На стадии 10 деления бластомеров за действия 2-аспарагин-3-хлор-1,4-нафтохинон в концентрации 10^{-10} М повышает активность Na^+ , K^+ -АТФазы. Установлены изменения и в динамике трансмембранного потенциала (ТМП) в течение дробления бластомеров, выражающееся в уменьшении амплитуды колебаний и абсолютных значений ТМП.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: 1,4-нафтохинон, аспарагин, аланин, трансмембранный потенциал, активность Na^+ , K^+ -АТФазы, вьюны.

ACTIVITY OF Na^+ , K^+ -ATPASE AND DYNAMICS OF TRANSMEMBRANE POTENTIAL DURING THE ACTION LOACH EMBRYO OF AMINO ACIDS DERIVATIVES OF 1,4-NAPHTHOQUINONE

A.B. Heneha, S.M. Mandzynets, M.V. Bura, V.P. Novikov*, N.H. Marintsova*, D.I. Sanagurski

Lviv National University of Ivan Franko, St. Hrushevskoho, 4, Lviv, 79005, Ukraine

**Lviv Politechnic National University, St. S.Bandera, 12, Lviv, 79013, Ukraine*

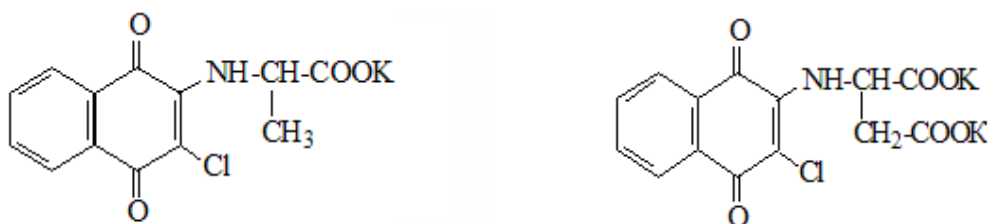
The amino acid derivatives of 1,4-naphthoquinone (aspartic acid) in the concentrations of 10^{-5} - 10^{-7} M leads to decreasing activity of membrane Na^+ , K^+ -ATPase embryos of loach (*Misgurnus fossilis* L.) at different stages of blastomer division. At stage 10 division of blastomers the 2-asparagine-3-chloro-1,4-naphthoquinone in the concentration 10^{-10} M leads to increasing the activity of Na^+ , K^+ -ATPase. It causes changes in dynamics of transmembrane potential (TMP) in division of blastomer. It causes reduction of amplitude and absolute values of TMP.

KEY WORDS: 1,4-naphthoquinone, aspartic acid, alanine, transmembrane potential, activity of Na^+ , K^+ -ATPase, loach.

Особливий інтерес становлять дослідження з синтезу, що містять одночасно амінокислотні фрагменти і хіноїдну систему зв'язків, оскільки вони можуть бути потенційними лікарськими засобами.

© Генега А.Б., Мандзинець С.М., Бура М.В., Марінцова Н.Г.,
Новіков В.П., Санагурський Д.І., 2011

Одним з розділів сучасної фармацевтичної та органічної хімії, що динамічно розвиваються, є хімія хіноїдних сполук, в якій важливе місце посідають нафтохінон та його похідні, зокрема, амінокислотні. Новосинтезовані амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону мають перспективи практичного використання в медицині та фармації [1-3], оскільки володіють низькою токсичністю [4], протигіпоксичною, протиішемічною та протисудомною діями [5]. Отже, амінокислотовмісні похідні 1,4-нафтохінону є перспективним класом хімічних сполук для пошуку речовин із церебропротекторними властивостями.



Калієва сіль 2-аланін-3-хлор-1,4-нафтохінону Калієва сіль 2-аспарагін-3-хлор-1,4-нафтохінону

Рис. 1. Структурні формули амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону

Динаміка трансмембранного потенціалу (ТМП) зародків в'юна *Misgurnus fossilis* L. протягом періоду дроблення бластомерів має коливний характер [6, 7], причому гіперполяризація – збільшення абсолютних значень потенціалу – припадає на інтерфазу клітинного циклу, а деполяризація – зменшення абсолютних значень – власне на мітоз [6]. Період коливань ТМП в нормі є приблизно однаковим протягом всього часу дроблення і становить близько 30 ± 2 хв [8], що співпадає з тривалістю клітинного циклу. Гойдою О.А. та співавторами показано, що активний транспорт іонів Na^+ , та K^+ є одним із факторів, що зумовлюють коливний характер ТМП зародків в'юна протягом раннього ембріогенезу [6-7]. Значна деполяризація мембрани при збереженні коливань, спостерігалася, як показали Гойда та співробітники [6, 12], при внесенні в середовище інкубації зародків специфічного інгібітору Na^+ , K^+ -активованої, Mg^{2+} -залежної АТФ-ази – серцевого глікозиду оубаїну.

Оскільки відомо, що зародки в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) у період раннього ембріогенезу є адекватною тест-системою для дослідження впливу різних фармакологічних [7, 8] та хімічних [9] чинників на живі організми, мета роботи полягала у з'ясуванні ймовірних механізмів впливу новосинтезованих калієвих солей амінокислот та нафтохінону на зміни динаміки ТМП та активності Na^+ , K^+ -АТФази на різних стадіях розвитку зародків в'юна.

МАТЕРІАЛИ Й МЕТОДИ

Дослідження проведені на зародках в'юна (*Misgurnus fossilis* L.) у період від запліднення до 6 години розвитку. Овуляцію стимулювали внутрішньом'язовим введенням самкам хоріогонічного гонадотропіну (500 од.). Ікру одержували через 36 год після стимуляції та запліднювали в чашках Петрі суспензією сперміїв за Нейфахом [11]. Сім'яники отримували після декапітації та розтину черевної порожнини самців. Через 5-10 хв після запліднення зиготи відмивали та інкубували у фізіологічному розчині Гольтфретера при температурі 20-22°C. Стадії розвитку контролювали візуально під бінокулярним мікроскопом МБС-9.

Мікрсомну фракцію мембран зародків в'юна одержували методом диференційного центрифугування у градієнті густини сахарози, як було описано у статті Луцика М.Д. та ін. [13]. Зародки попередньо гомогенізували у буферному

розчині наступного складу (ммоль/л): сахароза – 120,0; KCl – 130,0; MgCl₂ – 5,0; трис-НСl – 10,0 (рН 7,4; 4°C). Рештки зародкового жовтка осаджували центрифугуванням упродовж 10 хв при 1600 g. Надосадову рідину, збагачену фрагментами плазматичної та ретикулярної мембран, одержану після центрифугування 10 хв при 10 000 g, зберігали при температурі t=-20°C [13].

Перед початком експерименту аліквоту суспензії мембранного препарату (10 мкл) переносили в стандартне середовище інкубації, яке містило (ммоль/л): NaCl – 30,0; KCl – 125,0; MgCl₂ – 3,0; *трис*-Cl – 50,0 (рН=7,4; t= 21°C). АТР-гідролазну реакцію ініціювали додаванням 3 ммоль/л АТФ та інкубували 15 хв при t = 21°C, а зупиняли додаванням 10% ТХО. Na⁺, K⁺-АТФазну активність визначали за різницею між вмістом P_i у стандартному безкальцієвому середовищі при додаванні та за відсутності оубаїну (1 ммоль/л). У досліджувані проби додавали амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону до кінцевої концентрації в діапазоні 10⁻⁵÷10⁻¹⁰ М.

Питому активність Na⁺, K⁺-АТФ-азної системи досліджуваних клітин оцінювали за різницею між кількістю P_i, що утворився в середовищі інкубації різного складу за наявності та відсутності фрагментів мембран, з урахуванням поправки на вміст ендогенного P_i в 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 [14], а вміст білка в суспензії мембранного препарату – за методом Лоурі [12]. Вірогідність одержаних показників визначали за t-критерієм Стьюдента.

Статистичне опрацювання даних здійснювали з використанням програмного пакета для персональних комп'ютерів Microsoft Excel, достовірність змін встановлювали за t-критерієм Стьюдента [9].

ТМП реєстрували за допомогою стандартної мікроелектродної техніки на зібраній нами установці за допомогою скляного мікроелектрода, заповненого розчином KCl (2,5 М). Зародок звільняли від перивітелінової оболонки механічним способом (за допомогою препарувальних голочок) і поміщали в камеру експериментальної установки, заповнену розчином Гольтфретера. При проведенні експерименту в камеру вносили розчини амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону (аланіну та аспарагіну у концентрації 10⁻⁹ М), які виготовляли на основі фізіологічного розчину для холоднокровних (розчину Гольтфретера). Коливання записували за допомогою потенціометра КСП-4.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ

Значення ТМП у нормі періодично змінюється, причому тривалість одного коливання співпадає з тривалістю мітотичного циклу дроблення бластомерів і становить 30±2 хв. Наростання абсолютних значень потенціалу – гіперполяризація мембрани – припадає на інтерфазу мітотичного циклу, а деполяризація – зменшення абсолютних значень ТМП – на мітоз. Максимальних значень ТМП досягає приблизно на стадії 128 бластомерів (8 поділ) і становить 64-66 мВ [6]. Подібна тенденція змін характерна і для Na⁺, K⁺-активованої, Mg²⁺-залежної АТФази – на 8 поділі бластомерів досліджуваній фермент характеризується максимальним значенням активності (17,9±0,7 мкмоль P_i/год на 1 мг білка).

Приблизно після дев'ятого поділу (512 бластомерів – стадія морули) починається десинхронізація коливань ТМП, спостерігається значне зменшення амплітуди і поступове зникнення синхронних коливань потенціалу, яке супроводжується зниженням активності Na⁺, K⁺-АТФази. Таке “згасання” коливань пов'язано із початком асинхронних дроблень ядер, який припадає на стадію морули [6].

На рис. 2-3 представлено результати досліджень по вимірюванню ТМП за умов впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону (аспарагіну та аланіну).

Зареєстровано зсув у наростанні максимальних значень ТМП, що на нашу думку свідчить про часткове порушення у функціонуванні іонтранспортних систем [17, 18, 19], зокрема Na^+ , K^+ -АТФази, яка вносить вагомий вплив у підтримання значень ТМП бластомерів впродовж розвитку зародків [9]. Подібний вплив на ТМП зародків в'юна зафіксовано у разі внесення в середовище інкубації зародків специфічного інгібітору Na^+ , K^+ -активованої, Mg^{2+} -залежної АТФази – серцевого глікозиду оубаїну [15].

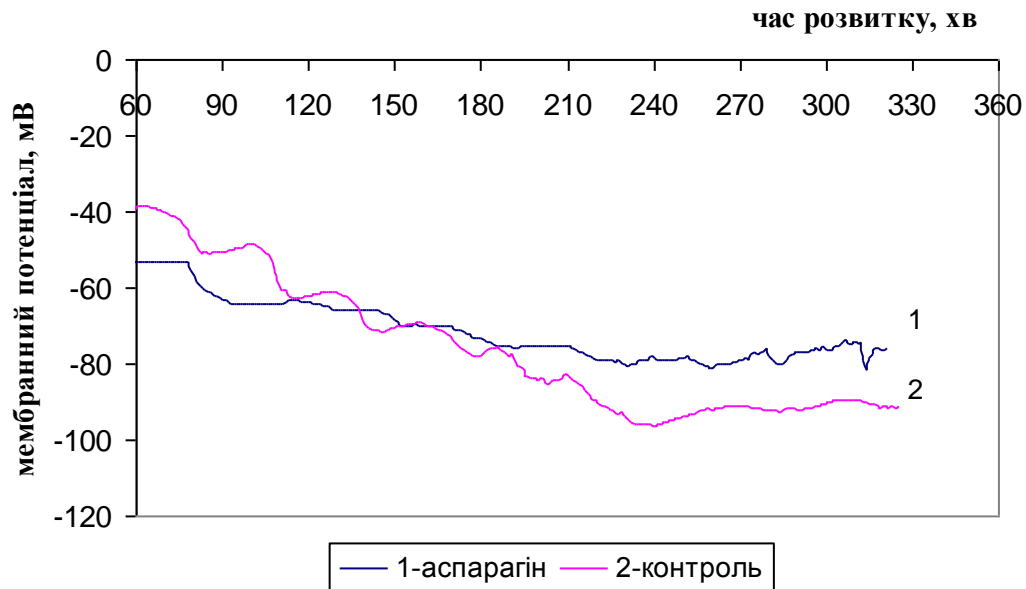


Рис. 2. Зміни ТМП за умов впливу аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону (10^{-9} М) у порівнянні з контролем.

З огляду на це можна припустити, що амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону впливають на динаміку трансмембранного потенціалу шляхом інгібування Na^+ , K^+ -помпи. Тому наступним завданням було з'ясування впливу амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону (аланіну та аспарагіну) на активність Na^+ , K^+ -АТФази, яка є інтегральним білком Na^+ , K^+ -помпи, й виконує спряжене з гідролізом АТФ транспортування йонів Na^+ і K^+ через мембрану [15].

На рис. 2 представлені криві динаміки ТМП зародків за дії 10^{-9} М аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону. Після внесення в середовище інкубації досліджуваної речовини відмічено поступову деполаризацію мембрани до рівня $-77\div-80$ мВ у порівнянні з контролем ($-95\div-98$ мВ) на 240 хв розвитку. Спостерігається виражене зменшення амплітуди й частоти коливань ТМП (майже в два рази), і водночас збільшується період коливань потенціалу зародків (рис. 2, крива 1).

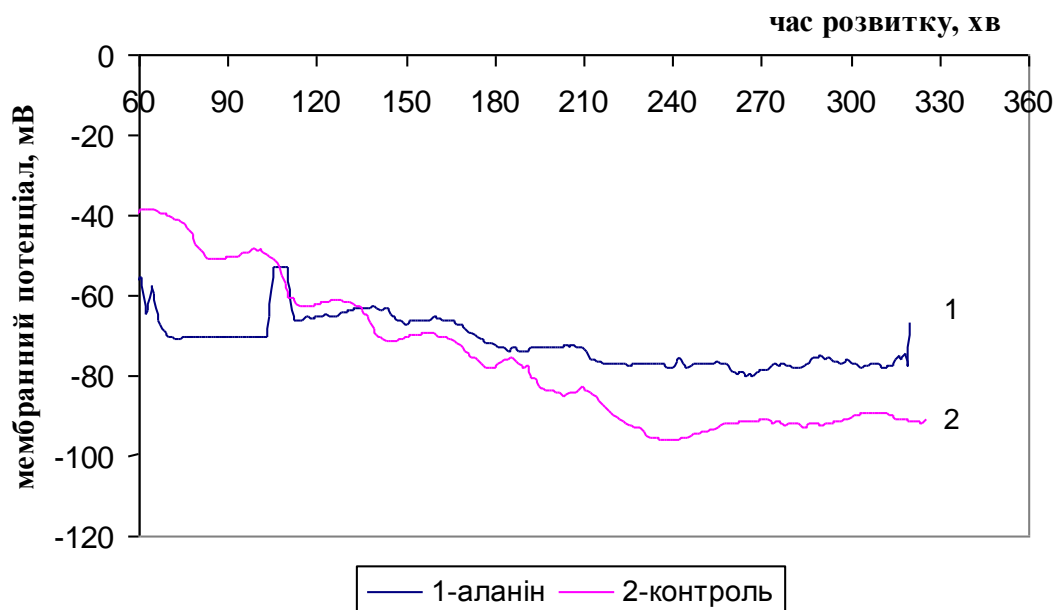


Рис. 3. Зміни ТМП у разі впливу аланінового похідного 1,4-нафтохінону (10^{-9} М) у порівнянні з контролем.

Коливання ТМП зародків, що розвивались в нормальних умовах (контроль) мають приблизно однакові період та частоту. Період кожного коливання складає 30 ± 2 хв, що відповідає тривалості клітинних поділів під час синхронних дроблень бластомерів в'юна при температурі середовища інкубації $18-20^{\circ}\text{C}$.

На рисунку 3 представлено вплив 2-аланін-3-хлор-1,4-нафтохінону у концентрації 10^{-9} М. Виявлено, що період коливань під дією 2-аланін-3-хлор-1,4-нафтохінону дещо збільшується порівняно з контролем, а також нівелюється амплітуда коливань ТМП, як і при дії аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону. При чому за впливу калієвої солі аланіну зареєстровану деполаризацію мембрани до рівня -75 мВ. Отримані дані можна пояснити відставанням у розвитку зародків [20, 21], які розвивалися за присутності досліджуваних новосинтезованих амінокислотних похідних.

Для з'ясування механізму впливу новосинтезованих амінокислотних похідних 1,4-нафтохінону проведено серію досліджень впливу на активність Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків упродовж раннього ембріогенезу.

У результаті проведених досліджень встановлено, що дія досліджуваного аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону у концентраціях $10^{-5} \div 10^{-9}$ М упродовж раннього ембріогенезу веде до виражених змін активності Na^+ , K^+ -АТФ-ази зародків у порівнянні з контролем.

На стадії 2 бластомерів активність Na^+ , K^+ -АТФази мембрани зародків в'юна достовірно знижується за дії аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону за концентрації $10^{-5} \div 10^{-9}$ М (див. рис.4). За дії низької концентрації аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону (10^{-10} М) активність Na^+ , K^+ -АТФази достовірно зростає у порівнянні з контролем (на $14,4 \pm 0,25$ %); активність АТФази у контролі становить $11,6 \pm 0,8$ мкмоль P_i /год на 1 мг білка.

На стадії розвитку 16 бластомерів як і на попередній досліджуваній стадії, після внесення в середовище інкубації похідного аспарагіну виявлено концентраційну залежність змін активності Na^+ , K^+ -АТФази зародків у порівнянні з контролем (див. рис.5). Найбільш виражених змін активність АТФази зародків на досліджуваній стадії розвитку зазнавала за наявності в середовищі інкубації аспарагінового похідного 1,4 нафтохінону в концентрації 10^{-5} ÷ 10^{-7} М. За таких умов активність Na^+ , K^+ -АТФази знижувалась відповідно на $73,4\pm 3,4\%$ та $48,8\pm 0,4\%$ відповідно. Проте за дії низьких концентрацій (10^{-9} ÷ 10^{-10} М) активність досліджуваного ферменту зародків достовірно не змінювалася.

Варто відмітити, що загалом при наявності в середовищі інкубації досліджуваної концентрації аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону, як і на попередніх стадіях розвитку спостерігалось дозозалежне достовірне зниження активності Na^+ , K^+ -АТФази зародків і на стадії 64 бластомерів на $71,4\pm 3,5\%$ і $20,8\pm 0,3\%$ відповідно (рис.6, а).

Внесення в середовище інкубації на стадії 8 поділу калієвої солі 2-аспарагін-3-хлор-1,4-нафтохінону у діапазоні концентрацій 10^{-5} ÷ 10^{-10} М проявляла інгібуючу дію на

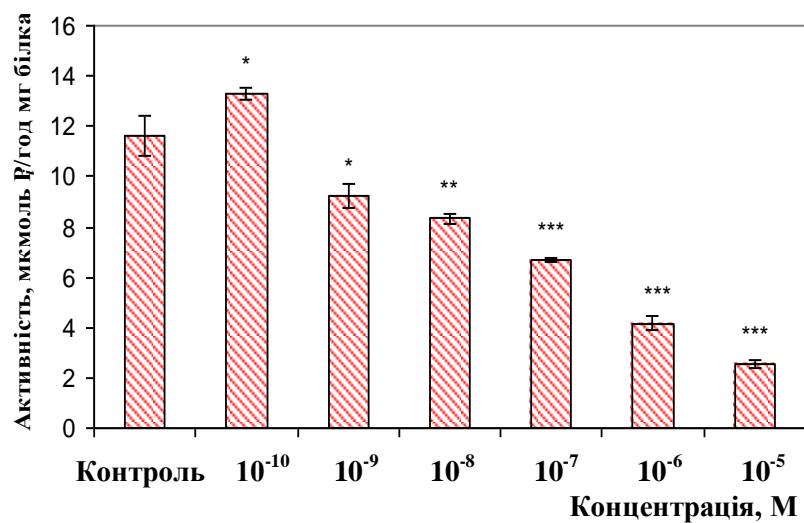


Рис. 4. Активність Na^+ , K^+ -АТФази за дії аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону на стадії 2 бластомерів. Тут і надалі вірогідні зміни порівняно із контролем: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$; *** – $p < 0,001$.

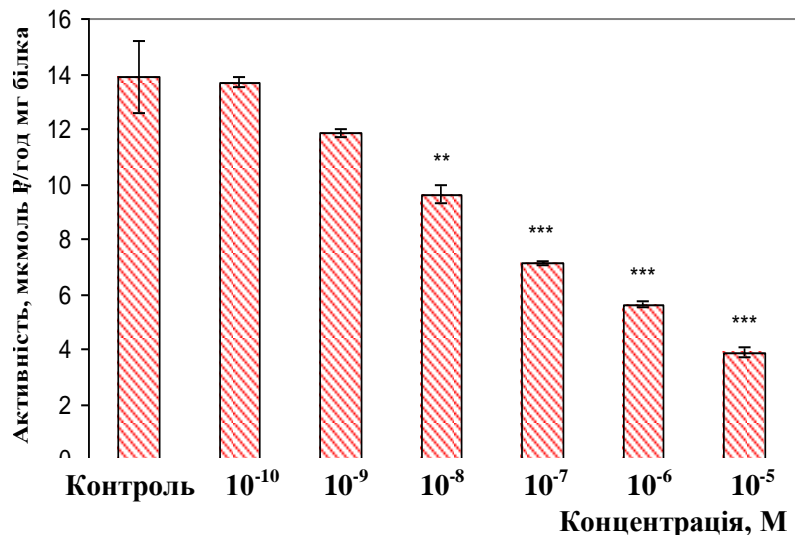


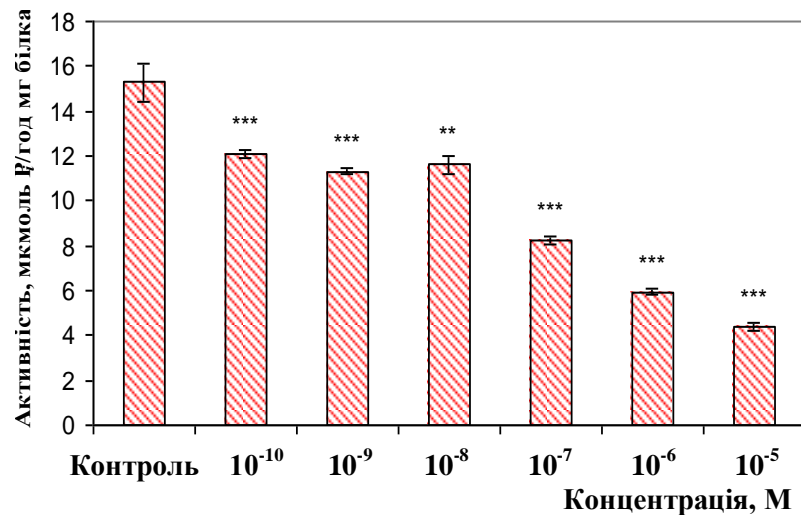
Рис. 5. Активність Na^+ , K^+ -АТФази за дії аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону на стадії 16 бластомерів.

функціонування Na^+ , K^+ -АТФази зародків в'юна (рис.6, б). При дії досліджуваних амінокислотних похідних у концентрації 10^{-10} М активність оубаїнчливої АТФази знижувалась на $25,9 \pm 0,4\%$ і становила відповідно $13,4 \pm 0,2$ мкмоль $\text{P}_i/\text{год}$ на 1 мг білка, у порівнянні зі значеннями АТФази у контролі, відповідно $17,9 \pm 0,6$

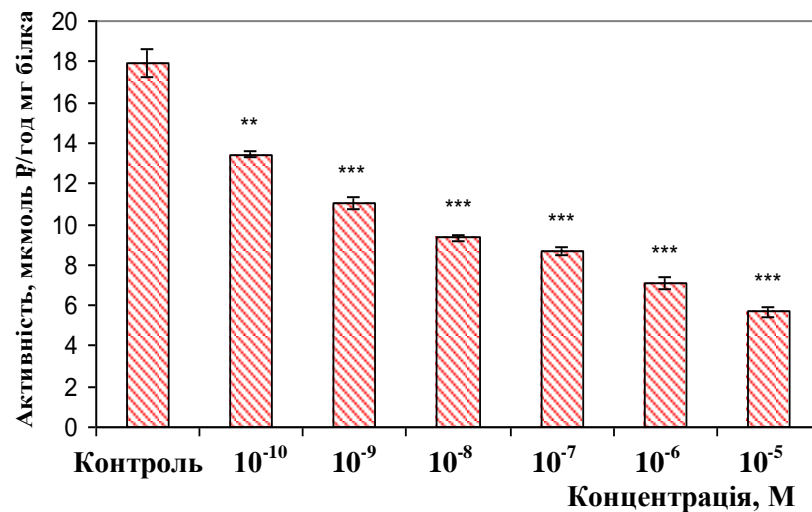
мкмоль $\text{P}_i/\text{год}$ на 1 мг.

Аспарагінове похідне 1,4-нафтохінону на стадії 10 поділу проявляло інгібуючу дію в діапазоні концентрацій $10^{-5} \div 10^{-9}$ М (рис.6, в). При додаванні в інкубаційне середовище діючої речовини в концентрації 10^{-10} М спостерігалось недовіряне зменшення активності Na^+ , K^+ -АТФази на $6,77 \pm 0,2\%$. Отже, можна вважати, що активність АТФази не достовірно відновлюється до рівня контрольних значень.

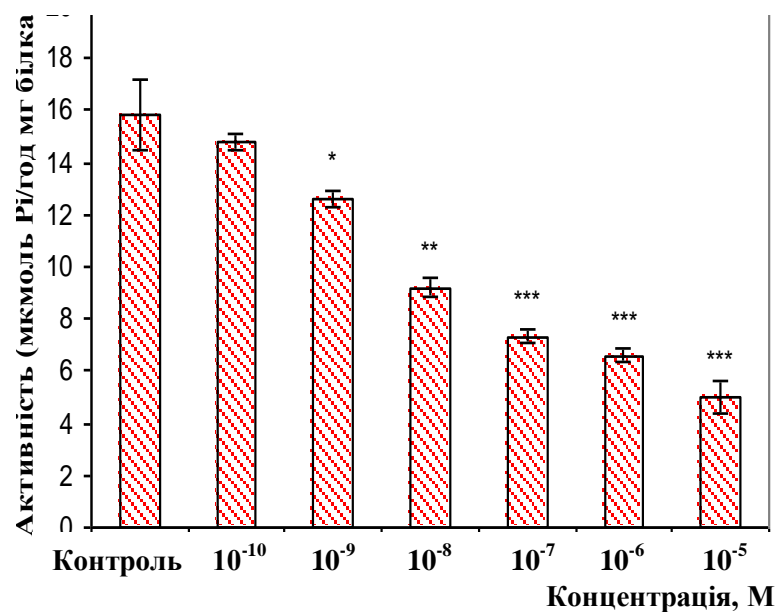
На стадії 10 поділу падає мітотичний індекс і зростає морфогенетична активність ядер, а всі біосинтетичні процеси вимагають перерозподілу пулів макроергів. Враховуючи структуру аланінвмісного та аспаргінвмісного похідних, ймовірно, в цей період проходить полегшене включення їх



a



б



в

Рис. 6. Активність Na^+ , K^+ -АТФази за дії аспарагінового похідного 1,4-нафтохінону на стадії 64 бластомерів (а), 8 (б) та 10 поділах (в).

в біосинтетичні процеси зародків, що й призводить до частково активування роботи АТФази.

Як встановлено у попередніх дослідженнях калієва сіль 2-аспарагін-3-хлор-1,4-нафтохінону проявляла більшу інгібуючу дію на активність Na^+ , K^+ -АТФази порівняно дією з калієвою сіллю 2- α -аланіну-3-хлор-1,4-нафтохінону [22, 23].

ВИСНОВКИ

Отже, додавання до середовища інкубації зародків в'юна амінокислотних похідних 1,4 нафтохінону (аланіну та аспарагіну) зумовлює зменшення абсолютних значень ТМП зародків упродовж синхронних поділів бластомерів. Спостерігалась досить вагома деполаризація мембрани починаючи з 115 хв розвитку зародків, амплітуда коливань зменшувалась в 1,5 рази порівняно з контрольними значеннями ТМП.

Встановлено, що калієва сіль аспарагіну достовірно дозозалежно інгібує активність Na^+ , K^+ -АТФази зародків в'юнів. На стадії 2 бластомерів калієва сіль 2-аспарагін-3-хлор-1,4-нафтохінону в концентрації 10^{-10} М достовірно збільшує оубаїнчутливу АТФазну активність. Амінокислотні похідні 1,4-нафтохінону можна віднести до дозозалежних модуляторів Na^+ , K^+ -активованого Mg^{2+} -залежного гідролізу АТФ, однак механізм їхньої дії остаточно не з'ясований, що потребує проведення подальших досліджень *in vivo*.

Робота виконана за підтримки Державного Фонду Фундаментальних Досліджень (№ 25.5/075).

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. El' Idrissi A. Syntez novyh aminopohidnyh 1,4-naftohinonu / A. El' Idrissi, L.R. Zhurahivs'ka, N.G. Marincova [ta in.] // Visn. Nacional'nogo universytetu «L'vivs'ka politehnika». – 2001. - № 426. – S. 111 – 114.
2. Zhurahivs'ka L.R. Novi heterocyklichni pohidni hinoniv / L.R. Zhurahivs'ka, A. El' Idrissi, N.G. Marincova [ta in.] // Visn. Nacional'nogo universytetu «L'vivs'ka politehnika». – 2002. - № 447. – S. 110 – 113.
3. El' Idrissi A. Doslidzhennja dii' suspensijnoi' mazi na osnovi karnozyn pohidnoi' 2,3-dyhloro-1,4-naftohinonu pry kontaktnomu alergichnomu dermatyti / A. El' Idrissi, V.G. Chervjencova, A.M. Krychkovs'ka [ta in.] // Farmac. zhurn. – 2003. – №5. – S.103–104.
4. El' Idrissi A. Syntez ta doslidzhennja gostroi' toksychnosti dejakyh aminokyslotnyh pohidnyh 2,3-dyhloro-1,4-naf-tohinonu / A. El' Idrissi, I.O. Bryn', N.G. Marincova [ta in.] // Visn. NU „L'vivs'ka politehnika”. – 2002. – № 461. – S.218–220.
5. El' Idrissi A. Vplyv argininopohidnogo naftohinonu na NO-syntaznu systemu za umov gipobarychnoi' gipoksii' / A. El' Idrissi, O.V. Korobova, R.Ja. Musjanovych [ta in.] // Farmac. zhurnal. – 2002. – № 3. – S.74–78.
6. Gojda O. A. Biofizicheskie aspekty rannego ontogeneza zhivotnyh / O.A. Gojda. – K.: Naukova dumka. – 1993. – 224s.
7. Sanagurskij D.I. Transmembrannyj potencial v rannem jembriogeneze v'juna (*Misgurnus fossilis* L.) pri gormonal'nyh vozdeystvijah: Avtoref. dis. ... kand. biol. nauk: K., 1983. 23 s.
8. Celevych M.V. Na^+ , K^+ -АТФ-азна акtyvnist' membran zarodkiv v'juna *Misgurnus fossilis* L. pry dii' antybiotykyv / M.V. Celevych, S.M. Mandzyneć, D.I. Sanagurs'kyj // Fiziol. zhurn. – 2004 - 50 (5) – S. 64-68.
9. Bojko N.M. Aktyvnist' Na^+ , K^+ -АТФази membran zarodkiv v'juna (*Misgurnus fossilis* L.) za dii' kationiv vazhkyh metaliv. / N.M. Bojko, M.V. Celevych, D.I. Sanagurs'kyj //Ukr. biohim. Zhurnal. – 2004. – 76(2) – S.59-63.
10. Beritashvili D. R. Adenozintrifosfaty v jembrional'nom razvitii v'juna / D. R. Beritashvili, T. V. Kutateladze, D. O. Marshani, K. V. Kafiani // Ontogenez. – 1974. – Т.5, №4. – S.363-371.
11. Nejfeh A. A. Problemy reguljacji v molekularnoj biologii razvitija / A. A. Nejfeh, M. Ja. Timofeeva. – M.: Nauka. – 1978. – 336 s.
12. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin phenol reagent / O.H. Lowry, N.G. Rosebrough, A.L. Farr, R.C. Randall // J. Biol. Chem. – 1951. – Vol. 193, № 1. – P. 265–275.
13. Lucik M. D. Ochistka i chastichnaja charakteristika plazmatischenkih membran kletok zarodyshej v'juna / M. D. Lucik, A. V. Luk'janenko, S. I. Kusen' // Ontogenez. – 1986. – Т. 17, №3. – S. 314-321.
14. Metody biohimicheskikh issledovanij (lipidnyj i jenergeticheskij obmen). Ucheb.posobie / Pod red. M.I.

- Prohorovoj. – L.: Izd-vo Leningr. Un-ta. – 1982. – 272 s.
15. Gojda E. A. Harakteristiki jelektrofiziologicheskikh parametrov membran jembrional'nyh kletok v'juna pri ingibirovanii Na⁺, K⁺-ATF-azy / E. A. Gojda, I. R. Medyna, D. I. Sanagurskij, N. S. Stel'mah // *Ontogenez*. – 1989. – T. 20, №2. – S. 164-170.
 16. Lopina O.D. Na⁺, K⁺-ATF-aza: struktura, mehanizmy i reguljacija aktivnosti / O.D. Lopina // *Biol. Membrany*. – 1999. – T.16, № 6. – S. 584-603.
 17. Sanagurs'kyj D.I. Zminy transmembrannogo potencialu za dii' aminokyslotnoi' pohidnoi' / D.I. Sanagurs'kyj, V.P. Novikov, M.V. Bura [ta in.] // VI Mezhdunarodnaja nauchno-tehnicheskaja konferencija BFFH – 2010 «Aktual'nye voprosy teoreticheskoi i prikladnoj biofiziki, fiziki i himii» (Sevastopol' 26 – 30 aprelja 2010 g.): materialy, – Sevastopol', 2010. – T. 2. - S. 130-131.
 18. Jaremyk R.Ja. Mikroprocesornyj koreljacijnyj analizator kolyvnoi' dynamiky bioelektrychnyh sygnaliv membran zarodkiv v'juna v period rann'ogo droblennja / R.Ja. Jaremyk, A.B. Genega, S.M, Mandzyneč', Ja.P. Ferensovych // III mizhnarodnoi' konferencija «Fizychni metody v ekologii' biologii' ta medycyni» (9-12 veresnja 2010r.,m. Shac'k): zbirnyk tez. - L'viv-Shac'k, 2010. – S.17-18.
 19. Genega A. B. Zminy elektrofiziologichnyh parametriv membran uprodovzh rann'ogo embriogenezu pid dijeju novo syntezovanyh aminokyslotnyh pohidnyh 1,4-naftohinonu / A. B. Genega, S. M. Mandzyneč', M.V Bura [ta in.] // VI Mizhnarodna naukova konferencija studentiv ta aspirantiv «Molod' i postup biologii'» (21-24 veresnja 2010 r., m. L'viv): zbirnyk tez. – L'viv, 2010.–S. 17-18.
 20. Genega A.B. Zminy morfologii' zarodkiv v'juna za umov vplyvu aminokyslotnyh pohidnyh naftohinonu uprodovzh embriogenezu /A.B. Genega, M.V. Bura, O.S. Jaremkevych [ta in.] //VII Naukovo-praktychna konferencija z mizhnarodnoju uchastju studentiv ta molodyh vchenyh «Naukovyj potencial molodi – progres medycyny majbutn'ogo» (7-9 kvitnja 2009 r., m. Uzhgorod): materialy konferencii'. – Uzhgorod, 2009. – S.100-101.
 21. Tymkiv A.B. Morfologichni zminy rozvytku zarodkiv ta lychynok *Misgurnus fossilis* L. za umov vplyvu alaninvmisnogo pohidnogo 1,4-naftohinonu / A.B. Tymkiv, M.V. Celevych, O.S. Jaremkevych, S.M. Mandzyneč' // I Mizhnarodnoi' naukovo' konferencii' studentiv, aspirantiv ta molodyh uchenyh «Fundamental'ni ta prykladni doslidzhennja v biologii'» (23-26 ljutogo 2009 r., Donec'k):materialy konferencii'. – Donec'k, 2009. - T. II. – S. 172-174.
 22. Jaremkevych O. Osoblyvosti dii' aminokyslotnyh pohidnyh 1,4-naftohinonu na aktyvnist' Na⁺, K⁺-ATFazy zarodkiv v'juna / O. Jaremkevych, M. Celevych, S. Mandzyneč' [ta in.] // Vseukrai'ns'ka naukova konferencija z mizhnarodnoju uchastju «Aktual'ni problemy suchasnoi' biohimii' ta klitynoi' biologii'» (30-31 zhovtnja 2008r., m. Dnipropetrovs'k) materialy konferencii'. – Dnipropetrovs'k, 2008. – S.119.
 23. Bura M. V. Osoblyvosti vplyvu asparaginovogo pohidnogo 1,4-naftohinonu na Na⁺, K⁺-ATFaznu aktyvnist' zarodkiv v'juna / M. V. Bura, A. B. Genega, O. S. Jaremkevych [ta in.] // VII Naukovo-praktychna konferencija z mizhnarodnoju uchastju studentiv ta molodyh vchenyh «Naukovyj potencial molodi – progres medycyny majbutn'ogo» (7-9 kvitnja 2009 r., m. Uzhgorod): materialy konferencii'. – Uzhgorod, 2009. – S. 100.