

Э. С. ГЕВОРКЯН

ГЕНЕТИЧЕСКИЙ КОНТРОЛЬ И СУБЪЕДИНИЧНАЯ СТРУКТУРА ИЗОФЕРМЕНТОВ ХОЛИНЭСТЕРАЗ У ВЫСШИХ ОРГАНИЗМОВ

В работе суммируются и интерпретируются имеющиеся в литературе данные по генетическому контролю изоэнзимных форм холинэстераз, их субъединичной структуре. На основании литературных данных показано, что холинэстеразы (как АХЭ, так и ПХЭ) в различных тканях могут кодироваться одним геном, несколькими генами определенного локуса или же генами различных локусов. Показано также, что молекулы холинэстераз представляют собой сложные структурные образования, состоящие, вероятнее всего, из четырех субъединиц, которые, связываясь определенным образом, дают активную ферментативную молекулу.

Система ацетилхолин-холинэстераза играет чрезвычайно важную роль в многочисленных процессах, протекающих в тканях, и, следовательно, изучение физиологической роли, структуры и свойств фермента холинэстеразы имеет большое значение в исследовании нейрогуморальных механизмов у животных организмов. Вместе с тем исследование субъединичной структуры ферментативных молекул дает реальную возможность глубже познать тонкий механизм действия ферментов, их роль в фермент-субстратном катализе и роль их активных центров. Такого рода исследования могут привести к определенным выводам о генетических аспектах контроля синтеза ферментов.

Холинэстераза — очень распространенный и высокоактивный фермент. Она представлена в организме животных в основном в двух формах: ацетилхолинэстераза, или «истинная» холинэстераза (АХЭ, 3.1.1.7) — высокоспецифическая форма фермента и псевдохолинэстераза, или «ложная» холинэстераза (ПХЭ, 3.1.1.8) — менее специфическая форма холинэстеразы, гидролизующая, помимо ацетилхолина, и другие сложные эфиры холина. Многочисленные исследования по изучению холинэстеразы (ХЭ) показали, что содержание фермента (как АХЭ, так и ПХЭ) колеблется в широких пределах в различных участках одного и того же органа и в различных органах высших животных.

В литературе накопилось огромное количество данных, касающихся множественных молекулярных форм холинэстераз, таких, как АХЭ эритроцитов [19, 63, 73, 80], нервной ткани [17, 21, 26, 51, 67, 77], мышечной ткани [4, 18, 81, 83], а также сыворотки [5, 39, 50, 64, 70, 76, 79, 80] и плазмы крови [8—11, 13, 22, 40, 58, 71], печени [4, 14, 23—25], сердца [2, 4, 38] и ряда других органов разных животных.

Наличие изоэнзимных форм холинэстераз обусловлено их ферментивными и молекулярными свойствами. Известно, что определенные варианты одних форм генетически детерминированы, в то время как другие являются предшественниками нативного белка или продуктами его

деградации. Благодаря этому изоферменты холинэстераз могут отличаться друг от друга молекулярным весом, но иметь идентичные ферментативные свойства, обладать почти сходными ферментативными свойствами при одинаковых молекулярных свойствах, наконец, они могут отличаться молекулярными свойствами, несколько различаясь между собой также в ферментативном катализе.

В данной работе сделана попытка собрать и интерпретировать литературные данные зарубежных и отечественных авторов последних лет по генетическому контролю и субъединичной структуре изоферментов двух основных форм ХЭ у высших животных.

Как известно, наследственную информацию можно рассматривать как программу, определяющую структуру всех белковых молекул, синтезирующихся в организме. Набор ферментов у каждого индивидуума должен быть отражением его генетической конституции, как генотипической, так и фенотипической. Данному вопросу посвящено большое количество работ [34, 65, 66, 69, 74 и др.], в которых изучались различные типы генетического контроля изоэнзимов. Последние, с этой точки зрения, могут быть разделены на три группы: одногенные изоферменты, многогенные аллельные и многогенные неаллельные изоферменты.

Изоферменты эстераз (в частности, ХЭ) в зависимости от вида животного и тканевых различий подвержены различным типам генетического контроля. Так, эстеразные изоферменты некоторых тканей человека и мыши могут служить примером одногенных изоэнзимов [69]. Показано, что эстеразы печени и почек человека распадаются при тонкослойном электрофорезе на изоэнзимный ряд, содержащий пять фракций в анодной области. Изоферментный ряд почек мигрирует к аноду несколько быстрее, чем соответствующие фракции печени. Несмотря на эти различия в подвижности, оба этих изоэнзимных ряда из различных тканей имеют на зимограммах сходный состав и обладают идентичной субстратой специфичностью и чувствительностью к ингибиторам. Они, вероятно, контролируются одним и тем же геном.

Примером многогенных аллельных изоферментов могут служить различные типы сывороточных ХЭ человека [11, 12, 27, 29, 32, 33, 42—44, 57, 60]. Это подтверждают также данные по чувствительности ХЭ к суксаметонию [20, 41, 45—48, 58, 59], которые показывают, что сывороточная ХЭ у людей, чувствительных к суксаметонию, должна качественно отличаться по структуре от нормального фермента и что различные типы ХЭ кодируются двумя или более генами. Эти изоферментные формы различаются по кинетическим свойствам при использовании различных субстратов и ингибиторов. Однако они очень близки в других отношениях (электрофоретическая подвижность, молекулярный вес). В основе различий в активности, наблюдаемых у разных генетических комбинаций этих аллелей, лежат, главным образом, различия в кинетике реакции с субстратом, а не в скорости синтеза или стабильности фермента.

Существование третьего типа генетического контроля изоферментов

при помощи генов различных локусов впервые было показано работами Харриса и сотр. [35], обнаруживших четыре фракции ХЭ в сыворотке крови человека. Однако примерно у 10% населения Европы и некоторых других стран имеется еще и дополнительный изофермент C_5 [36, 37, 70, 75]. Наличие изофермента C_5 , по-видимому, определяется локусом, не сцепленным тесно с локусом генов, кодирующих синтез первых четырех изоферментных фракций.

Обобщая эти данные, нужно подчеркнуть, что система генетических факторов, участвующих в определении уровня ХЭ в различных тканях, достаточно сложна. В одних тканях изоферменты кодируются одним геном, являясь олигомерными формами одного мономера. Они отличаются молекулярным весом и электрофоретической подвижностью, но имеют идентичные ферментативные, кинетические свойства. В других тканях, а также, в особенности, в сыворотке крови, холинэстеразы которой довольно тщательно изучались, система генетических факторов сложная и содержит, по крайней мере, два хромосомных локуса, каждый из которых представлен двумя или более аллелями.

Относительно субъединичной структуры ХЭ имеется довольно большое количество работ, причем исследовались как ПХЭ крови и других тканей, так и АХЭ нервной ткани.

Как уже говорилось выше, сывороточные ХЭ были подвергнуты тщательным электрофоретическим исследованиям, которые (наряду с ионнообменной хроматографией) позволили установить их молекулярные веса. Это, в свою очередь, явилось основой для выяснения субъединичной структуры ПХЭ. В работах Ля Мотта и сотр. было показано, что в сыворотке крови человека присутствуют пять изоферментов, отличающихся молекулярным весом. 95% общей ХЭ активности, приходится на более подвижный изоэнзим—ХЭ-5. Все другие изоэнзимы менее подвижны, после осаждения сульфатом аммония и последующего растворения превращаются в ХЭ-5 [52, 53]. Разница в молекулярных весах между изоэнзимами ХЭ, согласно этим авторам, была кратна 30000. Делается вывод, что различия между ХЭ-1 и ХЭ-5 обусловлены степенью молекулярной агрегации, т. е. множественные формы ХЭ являются полимерами или конформационными изомерами [54, 55]. Установлено, что изоэнзимы сывороточной ХЭ имеют определенные различия в кинетических свойствах и при ингибировании некоторыми фосфорорганическими соединениями не подчиняются кинетике первого порядка. Учитывая наличие четвертичной структуры у ХЭ, можно полагать, что множественные формы фермента отличаются по своему олигомерному состоянию, т. е. по размерам молекулярных агрегаций [6, 63]. Аугустинссон [1] также полагает, что множественность сывороточных ХЭ, обнаруженная у различных видов млекопитающих, очевидно, объясняется обратимой полимеризацией субъединиц фермента. Работами Ботина и Бродера [16] установлено, что молекулярный вес минорной фракции сывороточной ПХЭ человека, определенный с помощью гель-хроматографии, составляет 86000 ± 3000 , а основной фракции—приблизительно 350000. По мнению этих ав-

торов, наличие двух активных молекулярных форм ХЭ является убедительным доказательством того факта, что гетерогенность ХЭ млекопитающих является следствием обратимой полимеризации белковых субъединиц. По-видимому, компонент с молекулярным весом 86000 является наименьшей функциональной субъединицей, а компонент с молекулярным весом 348000 — тетрамером этих субъединиц. Остальные молекулярные формы сывороточных ХЭ, по мнению авторов, можно рассматривать как промежуточные структурные образования. Аналогичное заключение о строении изоферментов ХЭ сыворотки крови было сделано Скотом и Пауерсом [72], которые обнаружили, по крайней мере, четыре активные зоны при электрофореze фермента из человеческой сыворотки. Наибольшее количество фермента концентрировалось в зоне с наименьшей подвижностью C_4 . Она имеет молекулярный вес 250000 и состоит из одной полипептидной цепи. Авторы при помощи ряда оригинальных методов, доказывают, что ХЭ является тетрамером, а C_1 , C_2 и C_3 зоны, обнаруженные в сыворотке, могут быть мономерной, димерной и тримерной формой холинэстеразы. Мухамеджанов и сотр. [6] при исследовании ХЭ сыворотки крови человека и собаки высказали предположение, что изоферменты крови человека имеют одинаковый заряд и различаются молекулярными весами, т. е. гетерогенность в этом случае обусловлена различной степенью агрегации одной молекулярной формы фермента (типа мономер, димер, тример и т. д.). Наоборот, изоэнзимы ХЭ сыворотки крови собаки имеют равный молекулярный вес и отличаются по заряду.

Холинэстеразы тканей исследовались в гораздо меньшей степени, чем сывороточные ХЭ, однако и в отношении них можно считать доказанным наличие субъединиц. Кингсбери и Мастерс [49] определяли и сопоставляли молекулярные веса более чем 90 эстераз из тканей свиньи, овцы, лошади, быка, сумчатой крысы, морской свинки, крысы и цыпленка. ХЭ тканей этих животных можно разбить на две группы: с молекулярным весом 300000 и с молекулярным весом от 39000 до 50000 (овца, бык, морская свинка). Это вторая группа была идентифицирована как субъединичный компонент первой группы. Авторы высказывают предположение о возможности эволюции белков с эстеразной активностью, являющейся следствием усложнения их субъединичной структуры. Нами определялись молекулярные веса трех изоферментов ХЭ сердца крысы [3]. Установлено, что изоэнзимы имеют разные молекулярные веса, с разницей между ними 150000 единиц. Эксперименты по выявлению данных изоферментов в присутствии детергентов додецилсульфата натрия и мочевины позволили предположить, что изоэнзимы ХЭ сердца крысы являются полимером одного и того же мономера (а именно димером, тетрамером и секстамером), а мономер с молекулярным весом приблизительно 80000 ферментативно неактивен.

Субъединичная структура ацетилхолинэстераз из разных тканей исследовалась многими авторами. В работах Уильсона и сотр. [82] было показано, что в сердце эмбриона цыпленка имеется три изоэнзима фер-

мента, молекулярные веса которых равны: $XЭ-1 = 220000$, $XЭ-2 = 300000$, $XЭ-3 = 420000$. Причем среди них доминирует изофермент с меньшей электрофоретической подвижностью. Рядом исследователей [30, 31] изучалась АХЭ из электрического органа угря. Установлено, что при ионных силах меньше 0,3 и при нейтральных значениях pH происходит обратимая агрегация молекул АХЭ, в результате чего образуются агрегаты различного молекулярного веса. Лоулер [56] вычислил молекулярный вес для двух фракций АХЭ электрического угря: 13400000 и 31300000. Автор считает, что молекула АХЭ представляет собой полимер с молекулярным весом мономера 330000.

Методом электрофореза показано, что АХЭ мембран эритроцитов человека представляет собой димер с молекулярным весом приблизительно 180000. В присутствии 2-меркаптоэтанола этот димер диссоциирует на меньшие компоненты с молекулярным весом 90000 [15]. Скангель-Крамска и Немерко [77], изучая изоэнзимы АХЭ периферического нерва кролика, обнаружили две фракции с АХЭ активностью, с молекулярными весами 170000 и 310000. Авторы предполагают, что медленно мигрирующий изоэнзим АХЭ является димером быстро мигрирующей фракции. Фрод и Уильсон [28], исследуя АХЭ в градиенте сахарозы, обнаружили, что АХЭ с коэффициентом 10,5 S (молекулярный вес 224000) диссоциирует на частицы с седиментационным коэффициентом 6,2 S (молекулярный вес 102000) при обработке ее гуанидином. Дальнейшая обработка частиц фермента дает субъединицы с 3,8 S (молекулярный вес 49000). Субъединицы с двумя последними коэффициентами энзиматически неактивны. Активный фермент, по мнению авторов, состоит, вероятно, из четырех субъединиц, связанных друг с другом S—S связью. Количество субъединиц совпадает с количеством активных центров у фермента. В работах Милара и Графиуса [68] было показано, что молекулярный вес АХЭ равен 260000 и что фермент имеет двумерную структуру. Тем не менее, согласно этим авторам, нативный фермент состоит из шести субъединиц, каждая с молекулярным весом 42000. По данным Лейцингера и сотр. [61, 62], молекулярный вес АХЭ равен 260000. Фермент в присутствии гуанидина и меркаптоэтанола расщепляется на четыре субъединицы, имеющие равные молекулярные веса. Исследование С-концевых остатков показало, что в молекуле АХЭ присутствуют два типа полипептидных цепей, что дает возможность предположить димерную структуру фермента с 2 α - и 2 β -цепями. α -цепь АХЭ содержит активный участок фермента, в то время как функция β -цепей остается еще полностью неизвестной (хотя можно считать доказанным, что в ней содержится аллостерический центр АХЭ). Цепи α и β соединены друг с другом S—S мостиком.

Таким образом, можно заключить, что молекулы АХЭ и ПХЭ представляют собой довольно сложные структурные образования, состоящие, вероятнее всего, из четырех субъединиц. Совокупность этих субъединиц, связанных определенным образом, дает активную ферментативную молекулу. В свою очередь, элементарные ферментативные мо-

лекулы—мономеры могут объединяться друг с другом в олигомеры, образуя различные изоферменты холинэстераз. Можно также предположить, что эти изоферменты, отличаясь друг от друга количеством мономеров, являются продуктом синтеза одного или более генов.

Ереванский государственный университет,
кафедра биофизики

Поступило 17.III 1975 г.

Է. Ս. ԳԵՎՈՐԳՅԱՆ

ԽՈՒԼԻՆԷՍԹԵՐԱԶԻ ԻԶՈՖԵՐՄԵՆՏՆԵՐԻ ԳԵՆԵՏԻԿԱԿԱՆ ԿԱՐԳԱՎՈՐՈՒՄՆ
ՈՒ ՍՈՒԲՄԻԱՎՈՐՆԵՐԻ ԿԱՌՈՒՑՎԱԾՔԸ ԲԱՐՁՐԱԿԱՐԳ ՕՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու մ

Հոգավածը նվիրված է խուլինէսթերազի իզոլինդիմների գենետիկական կարգավորման և նրանց սուբմիավորների կառուցվածքի վերաբերյալ գրականության մեջ եղած տվյալների ի մի բերմանն ու մեկնաբանմանը: Այդ տվյալների հիման վրա ցույց է տրված, որ տարբեր հյուսվածքներում խուլինէսթերազի հիմնական երկու ձևերը կարող են կոդավորվել մեկ գենով, որոշակի լոկուսի մի քանի գեներով կամ էլ՝ տարբեր լոկուսների գեներով, խուլինէսթերազի մոլեկուլները իրենցից ներկայացնում են բարդ կառուցվածքային գոյացումներ, որոնք, հավանորին, կազմված են չորս սուբմիավորներից: Վերջիններս, որոշակի կապերով միանալով, առաջացնում են ակտիվ ֆերմենտատիվ մոլեկուլ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Augustinsson K.-B. Бюлл. Всемир. орг. здрав., 44. 1, 2, 3, 81, 1972.
2. Геворкян Э. С., Марилян Г. Г. Паносян Г. А. Биологический журнал Армении, 26, 3, 61, 1973.
3. Геворкян Э. С., Паносян Г. А. Биологический журнал Армении, 26, 8, 66, 1973.
4. Долго-Сабунов В. Б. Укр. биохим. журн., 41, 6, 671, 1969.
5. Мухамеджанов Э. К. Лабор. дело, 1, 19, 1971.
6. Мухамеджанов Э. К., Сарсенова Ш., Богатков С. В., Черкасова Е. М. Вопр. мед. химии, 19, 1, 6, 1973.
7. Allen S. Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 753, 1961.
8. Augustinsson K.-B. Acta chem. scand., 13, 571, 1959.
9. Augustinsson K.-B. Acta chem. scand., 13, 1081, 1959.
10. Augustinsson K.-B. Acta chem. scand., 13, 1097, 1959.
11. Augustinsson K.-B. Ann. N. Y. Acad. Sci., 94, 3, 844, 1961.
12. Augustinsson K.-B. In: Koelle G. B. (sub. editor), Cholinesterases and anticholinesterase agents. Handbuch der experimentellen Pharmacologie, Ergänzungs-werk, 15, 89, 1963.
13. Bajgar J., Patočka J. Supple sb. ved. prací. lékař. fak. Karlovy univ. Hradci Králové, 12, 2, 123, 1969.
14. Bajgar J., Patočka J. Supple sb. ved. prací. lékař. fak. Karlovy univ. Hradci Králové, 12, 3, 333, 1969.

15. *Bellhorn M. B., Blumbergfeld O. O., Gallop P. M.* Biochem. Biophys. Res. Commun., 39, 2, 267, 1970.
16. *Boutin D., Brodeur J.* Can. J. Physiol. Pharmacol., 49, 8, 777, 1971.
17. *Chan S., Shtrachi D., Bhargava H., Gardner E., Trevor A. J.* Neurochem. 19, 12, 2747, 1972.
18. *Christoff N., Anderson P. J., Slotwimer P., Song S. K.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 135, 1, 150, 1966.
19. *Cilly G., Özand P.* Biochim. Biophys. Acta, 284, 1, 136, 1972.
20. *Clark S., Glaubiger J., La Du B.* Ann. N. Y. Acad. Sci., 151, 710, 1968.
21. *Davis G. A., Agranoff B. W.* Nature, 220, 5164, 277, 1968.
22. *Ecobichon D., Comeau A.* Toxicol. Appl. Pharmacol., 24, 1, 92, 1973.
23. *Ecobichon D., Kalow W.* Canad. J. Biochem. Physiol., 39, 1320, 1961.
24. *Ecobichon D., Kalow W.* Biochem. Pharmacol., 11, 573, 1962.
25. *Ecobichon D., Kalow W.* Canad. J. Biochem. Physiol., 41, 969, 1963.
26. *Eldefrawi M., Tripathi R., O'Brien R.* Biochim. Biophys. Acta., 212, 2, 308, 1970.
27. *Fincham J.* Advanc. Enzymol., 22, 1, 1960.
28. *Froede H. C., Wilson I. B.* Isr. J. Med. Sci., 6, 2, 179, 1970.
29. *Goedde H. W., Altland K., Bross K.* Dtsch. med. Wochenschr. 88, 52, 2510, 1963.
30. *Graflus M. A., Millar D. B.* Biochemistry, 6, 4, 1034, 1967.
31. *Graflus M. A., Fries S. L., Millar D. B.* Arch. Biochem. Biophys., 126, 2, 707, 1968.
32. *Harris H.* In: Clinical aspects of Genetics. Jones F. A. (ed.), London, 117, 1961.
33. *Harris H.* In: Linneweh F. (ed.), Erbliche Stoffwechselkrankheiten. München, Berlin, 12, 1962.
34. *Harris H.* Proc. Roy. Soc., London, B-174, 1034, 1, 1969.
35. *Harris H., Hopkinson D. A., Robson E. B.* Nature, 196, 1296, 1962.
36. *Harris H., Hopkinson D., Robson E. B., Whittaker M.* Ann. hum. Genet., 26, 359, 1963.
37. *Harris H., Robson E., Glen-Bott A., Thornton J.* Nature, London, 200, 1185, 1963.
38. *Holmes R. S., Masters C. J.* Biochim. Biophys. Acta., 146, 1, 138, 1967.
39. *Hunter R. L., Denucé J. M., Strachan D. S.* Ann. histochim., 6, 4, 447, 1961.
40. *Juul P.* Clin. Chim. Acta, 19, 2, 205, 1968.
41. *Kalow W.* Lancet, 2, 576, 1956.
42. *Kalow W.* In: Ciba Found-Symp. Biochemistry of Human Genetics. London, 39, 1959.
43. *Kalow W.* Anesthesiology, 20, 505, 1959.
44. *Kalow W.* In: Linneweh F. (ed.), Erbliche Stoffwechselkrankheiten. München, Berlin, 541, 1962.
45. *Kalow W., Davies R.* Biochem. Pharmacol., 1, 183, 1958.
46. *Kalow W., Genest K.* Canad. J. Biochem. Physiol., 35, 339, 1957.
47. *Kalow W., Gunn D. J.* Pharmacol. Exp. Therap., 120, 203, 1957.
48. *Kaufman L., Lehmann H., Silk E.* Brit. Med. J., 1, 166, 1960.
49. *Kingsbury N., Masters C. J.* Biochem. Biophys. Acta., 200, 1, 58, 1970.
50. *Klinger R. W., Pearson D. D.* Proc. Pa. Acad. Sci., 43, 69, 1969.
51. *Knowles Ch. O., Arurkar S. K. J.* Kans. Entomol. Soc., 42, 1, 39, 1969.
52. *La Motta R. V., McComb R. B., Noll C. R. et al.* Arch. Biochem. Biophys., 124, 1—3, 299, 1968.
53. *La Motta R. V., McComb R. B., Wetstone H. J.* Canad. J. Physiol. Pharmacol., 43, 2, 313, 1965.
54. *La Motta R. V., Woronick Ch. L.* Clin. Chem., 17, 3, 135, 1971.
55. *La Motta R. V., Woronick Ch. L., Reinfrank R. F.* Arch. Biochem. Biophys., 136, 2, 448, 1970.
56. *Lawler H. C. J.* Biol. Chem., 238, 1, 132, 1963.
57. *Lehmann H., Liddell J.* Progr. Med. Genet., 3, N.—Y., London, 75, 1964.

58. *Lehmann H., Patstone V., Ryan E. J. Clin. Path.*, 11, 554, 1958.
59. *Lehmann H., Silk E. Brit. Med. J.*, 1, 129, 1961.
60. *Lehmann H., Silk E., Liddell J. Brit. Med. Bull.*, 17, 230, 1961.
61. *Leuzinger W. In: Cholinergic Ligand Interactions, Proc. Symp. N. Y.*, 19, 1970 (Pub. 1971).
62. *Leuzinger W., Goldberg M., Cauvin E. J. Molec. Biol.*, 40, 2, 217, 1969.
63. *Main A. R. J. Biol. Chem.*, 244, 4, 829, 1969.
64. *Main A. R., Tarkan E., Aull J. L., Soule W. G. J. Biol. Chem.*, 247, 2, 566, 1972.
65. *Markert C. Science*, 140, 1329, 1963.
66. *Markert C., Moller F. Proc. Nat. Acad. Sci.*, 45, 753, 1959.
67. *Maynard E. A. J. Exp. Zool.*, 161, 3, 319, 1966.
68. *Millar D. B., Graflus M. A. FEBS Letters*, 12, 1, 61, 1970.
69. *Ogita Z. Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 151, 1, 243, 1968.
70. *Robson E., Harris H. Ann. Hum. Genet. Lond.*, 29, 403, 1965.
71. *Saeed Sh. A., Chadwick G. R., Mill P. J. Blochim. Biophys. Acta*, 229, 1, 186, 1971.
72. *Scott E. M., Powers R. F. Nature, New Biol.*, 236, 64, 83, 1972.
73. *Shafal F., Cortner J. Blochim. Biophys. Acta*, 236, 3, 612, 1971.
74. *Shaw C. Brookhaven Sympos. Biol.*, 17, 117, 1964.
75. *Simpson N. E. Am. J. Hum. Genet.*, 18, 243, 1966.
76. *Singerman A. Rev. Assoc. Bloquim. Argent.*, 34, 180—181, 15, 1969.
77. *Skangiel-Kramska I., Nlemierko S. Bull. Acad. Pol. Sci., Ser. Sci., Biol.*, 19, 6, 389, 1971.
78. *Stosiek U., Zimmermann F., Helmhold W., Hardegg W. Pflügers Arch.*, 310, 2, 95, 1969.
79. *Vincent D., Perrier H., Rouzioux J. M. C. R. Soc. Biol.*, 164, 8—9, 1767, 1970.
80. *Vincent D., Perrier H., Rouzioux J. M. J. Med. Lyon*, 52, 1214, 1187, 1971.
81. *Wilson B. W., Kaplan M. A., Merhoff W. C., Mori S. S. J. Exp. Zool.*, 174, 1, 39, 1970.
82. *Wilson B. W., Mettler M. A., Asmundson R. V. J. Exp. Zool.*, 172, 49, 1969.
83. *Wilson B. W., Montgomery M. A., Asmundson R. V. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 129, 1, 199, 1968.