

ОСОБЛИВОСТІ АРГІНАЗНОГО ТА NO-СИНТАЗНОГО ШЛЯХІВ МЕТАБОЛІЗМУ L-АРГІНІНУ В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ЩУРІВ ЗА ХРОНІЧНОГО РЕНТГЕНІВСЬКОГО ОПРОМІНЕННЯ

Ю. В. ПЕРЕТЯТКО, Н. О. СИБІРНА

Львівський національний університет імені Івана Франка, Україна;
e-mail: yulia.peretyatko@mail.com

Аргінін бере участь у багатьох метаболічних процесах клітини. Він задіяний не лише в динамічному циклі взаємоперетворення з амінокислотами проліном і глутаміном, але також є попередником у синтезі протеїнів, оксиду азоту, креатину, поліамінів, агматину та сечовини.

Досліджено особливості аргіназного і NO-синтазного шляхів перетворення L-аргініну за впливу хронічного рентгенівського опромінення в радіочутливих клітинах периферичної крові – лейкоцитах – на тлі введення щурам *per os* L-аргініну та L-NAME (N-nitro-L-argininemethyl ester). Виявлено, що як L-аргінін (основний субстрат NO-синтази та аргінази), так і L-NAME (неселективний інгібітор NO-синтази) мають позитивну коригувальну дію, знижуючи надпродукцію оксиду азоту під час хронічного рентгенівського опромінення організму.

Ключові слова: аргіназа, L-аргінін, NO-синтаза, лейкоцити, оксид азоту, плазма крові, рентгенівське опромінення.

Однією із причин загибелі багатоклітинних організмів унаслідок дії іонізуючого випромінювання є ушкодження радіочутливих клітин, до яких належать лейкоцити. Відомо, що гемато-лімфоїдна система дуже чутлива до впливу рентгенівських променів, які порушують функції імунокомпетентних клітин [1]. Зміни в системі імунітету, які індуковані радіацією і створюють передумови для розвитку автоінфекційних та аутоімунних процесів, призводять до зниження кількості імунокомпетентних клітин, передусім лімфоцитів [2, 3].

Згідно з даними літератури, іонізуюче випромінювання може мати як ушкоджувальний, так і подразнювальний (стресорний) ефекти. Виявлено, що радіація спричинює в низьких дозах зміни в синтезі і продукції цитокінів, ініціює апоптичні процеси та негативно впливає на функціональний стан клітин [4]. Небезпека хронічного опромінення полягає в тому, що воно зумовлює лабілізацію геному, знижуючи стабільність ДНК через виникнення конформаційних перебудов у молекулах, а також підвищуючи імовірність генетичних ушкоджень за повторної дії радіації в низьких дозах, на відміну від високих, які за повторного впливу стимулюють адаптивну відповідь організму [5].

У разі дії на організм іонізуючого випромінювання низької інтенсивності особливого значення набувають процеси, пов'язані з утворенням активних метаболітів кисню (АМК), оскільки за високих концентрацій вони модифікують біомолекули і призводять до деструктивних змін у клітині, аж до її загибелі [6]. До АМК належить оксид азоту (NO), який синтезується ендогенно з L-аргініну за участю трьох ізоформ синтази оксиду азоту (NOS; L-аргінін і NADPH: кисень оксидоредуктази, КФ 1.14.13.39) [7]. NO, що утворюється у надмірній кількості при патологічних станах організму і має виражену цитотоксичну дію внаслідок утворення пероксинітриду – продукту взаємодії NO та супероксиданіон-радикала, здатного до деструкції практично всіх компонентів клітини [8–12].

Одним із можливих механізмів зниження синтезу NO є зменшення клітинного пулу субстрату NOS – L-аргініну [13]. Це може бути наслідком порушення надходження його до клітини або активації аргінази [14]. Аргіназа (КФ 3.5.3.1) – це металоензим, що каталізує гідроліз L-аргініну до L-орнітину та сечовини. Крім участі у процесі детоксикації аміаку, ензим бере участь у синтезі поліамінів, які задіяні в багатьох метаболічних процесах: проліну – амінокислоти, що домінує у сполучній

тканині; глутаміну, який відіграє центральну роль в обміні азоту і є медіатором нервової системи, а також субстратом для синтезу багатьох протеїнів. Фізіологічна роль аргінази і її участь у численних метаболічних перетвореннях свідчить, що вона належить до важливої ланки в розвитку багатьох патологічних станів організму. У ссавців присутні дві ізоформи цього ензиму: аргіназа I – бере участь у циклі сечовини і локалізується в цитозолі гепатоцитів та аргіназа II – ензим мітохондріальної локалізації, який виявлено в різних типах клітин, зокрема в макрофагах. Аргіназа II регулює клітинну концентрацію L-аргініну/орнітину і, крім того, інгібує активність NOS, безпосередньо регулюючи синтез NO [15,16].

Таким чином, обмін L-аргініну може здійснюватися в організмі шляхом окисного перетворення за участю (NOS до NO та L-цитруліну) і неокисного – за участю аргінази (до сечовини та орнітину). Співвідношення між цими ензимами забезпечує у клітинах певний фізіологічний пул L-аргініну, а також генерацію активних форм азоту, який забезпечує функціональну активність лейкоцитів [17].

Метою роботи було дослідити вміст вільного L-аргініну у плазмі крові і активність ензимів окисного та неокисного шляхів його перетворення в лейкоцитах периферичної крові за нормального стану організму та за дії на нього рентгенівського випромінювання, а також впливу на ці процеси введення щуром *per os* L-аргініну та L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester) – неселективного інгібітора NO-синтази.

Матеріали і методи

У дослідженнях було використано 83 білих щурів-самців лінії Вістар з масою тіла 120–140 г. Досліди проводили згідно з етичним кодексом МОЗ України. Тваринам було забезпечено вільний доступ до їжі та води і перебування за стандартних умов фотоперіоду під час утримання (12-годинна зміна світла та темноти). Щурів розділили на шість груп: 1 – контрольні (інтактні) тварини (К); 2 – тваринам із питною водою упродовж 30 діб вводили L-аргінін (Reanal, Угорщина) у концентрації 1,25 г/л (K+L-Arg); 3 – щуром з питною водою упродовж 30 діб вводили L-NAME (Sigma) у концентрації 70 мг/л (K+L-NAME); 4 – щурів 30 діб щоденно опромінювали в дозі 1 сГр на апараті РУМ-17 (шкірно-фокусна відстань – 178 см, напруга – 110 кВ, сила струму – 4 мА, фільтри – Cu 0,5 мм та Al – 1,0 мм, потужність дози – 0,042 мГр·с⁻¹, час опромінювання – 4 хв);

5 – опромінені протягом 30 діб тварини з питною водою отримували L-аргінін (O+L-Arg); 6 – опромінені протягом 30 діб щури з питною водою отримували L-NAME (O+L-NAME). Дозу опромінювання контролювали клінічним дозиметром типу 27012 (Otto Shon, Німеччина).

Для визначення концентрації вільного L-аргініну у плазмі крові, протеїни осаджували 20%-ю трихлороцтовою кислотою. Одержаний супернатант інкубували протягом 20 хв при кімнатній температурі у суміші такого складу (у %): NaOH – 20, α -нафтол – 0,02, сечовина – 10, гіпобромідний реактив (Br₂ та 5%-й NaOH, співвідношення 1 : 100). Світло поглинання вимірювали на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 500 нм. Концентрацію L-аргініну виражали в мг/мл [18].

Активність ензимів в лейкоцитах периферичної крові визначали на 10-, 20- та 30-у доби після опромінювання тварин (сумарна доза його опромінювання становила відповідно 10, 20 та 30 сГр).

Лейкоцити виділяли з гепаринізованої крові у градієнті густини фікол–тріомбразт ($\rho = 1,076$ – $1,078$) [19]. Після центрифугування клітини двічі відмивали забуференим фізіологічним розчином (PBS, pH 7,4). Життєздатність клітин у тесті із трипановим синім була не менше 98%. Окрім того, здійснювали також цитологічний аналіз виділеної популяції. Для цього на чисте знежирене предметне скло наносили краплю концентрату лейкоцитів. Сухий мазок, зафіксований метанолом, після повного висихання заливали 70%-м етанолом для попередження змиву клітин, після чого їх фарбували за методом Романовського. Аналіз мазка, проведений після висихання за допомогою світлового мікроскопу, показав, що ми одержували гетерогенну фракцію лейкоцитів, домішки еритроцитів в якій становили менше 0,1%.

Клітини ресуспендували в PBS, який містить інгібітори протеаз фірми Sigma (Німеччина) у концентрації 5 мг/мл: PMSF, апротонін, хімоїдин і пепстатин. Лізис клітин здійснювали шляхом заморожування у рідкому азоті та відтаювання на водяній бані при 37 °С.

У лізаті визначали активність NOS і аргінази. Для тестування активності NOS аліквоти лізатів лейкоцитів (3 мл) інкубували в субстратній суміші такого складу: трис-HCl – 0,1 М (pH 7,4), CaCl₂ – 0,9 М, L-аргінін – 5,74 мМ, NADPH(H⁺) – 1,2 мМ. Контрольні та безсубстратні зразки (до яких субстрат не вводили) готували аналогічно до дослідних, але вони замість NADPH(H⁺) та L-аргініну

містили бідистильовану воду. Дослідні проби спектрофотометрували проти контрольних та безсубстратних зразків при 340 нм, після чого їх інкубували протягом 20 хв при 37 °С. Реакцію зупиняли внесенням до реакційного середовища HClO_4 (1,5 М). У розчині реєстрували абсорбцію світла. Активність NOS виражали в наномолях окисленого $\text{NADPH}(\text{H}^+)/\text{хв}$ на 1 мг загального протеїну у пробі [14].

Активність аргінази визначали за утворенням сечовини, а вміст сечовини вимірювали за допомогою діагностичного набору фірми Сімко (Україна) відповідно до інструкції фірми виробника. Аліквоти лізатів інкубували 30 хв на шейкері при 37 °С у суміші такого складу (в М): трис – 2, MnCl_2 – 0,2; NaOH – 10, аргінін – 1. Реакцію зупиняли внесенням до розчину 36 мкл 50%-ї трихлороцтової кислоти, після чого в ньому визначали загальний вміст сечовини. Крім дослідних, готували аналогічні до них зразки, в яких реакцію припиняли до інкубації, що дозволяло визначити вихідний вміст сечовини. До контрольної проби замість супернатанту вводили бідистильовану воду. Готували також пробу, яка містила стандартний розчин сечовини (16,65 ммоль/л) замість супернатанту. Усі зразки спектрофотометрували проти контрольних при 520 нм. Активність аргінази обчислювали і виражали в наномолях утвореної сечовини/хв на 1 мг загального протеїну у пробі. Концентрацію загального протеїну визначали методом G. Peterson [20].

Результати досліджень обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента.

Розбіжності вважалися статистично вірогідними, якщо $P \leq 0,05$.

Результати та обговорення

Одержані нами дані свідчать, що за дії на щурів рентгенівського випромінювання концентрація вільного L-аргініну у плазмі крові на 10-у добу зростає порівняно з контрольними тваринами в 4 рази, проте на 20-у та 30-у доби спостерігається поступове зниження її (рис. 1). При цьому введення контрольним та опроміненим щурам екзогенного L-аргініну спричинює однаково спрямовані зміни: концентрація цієї амінокислоти зростає у тварин обох груп.

Оскільки L-аргінін є субстратом NOS та аргінази, то було важливо дослідити дію радіації на співвідношення окисного та неокисного шляхів метаболізму амінокислоти при патологічному процесі. Результати досліджень показують, що після опромінення щурів на 10-, 20- і 30-у доби експерименту спостерігається підвищення активності NOS (у 2,0, 2,8 та 4,7 рази відповідно) порівняно з контролем, у той час як активність аргінази знижується (рис. 2).

З огляду на те, що клітинна продукція NO в лейкоцитах повністю залежить від наявності аргініну [21,22], зростання активності NOS після опромінення тварин, імовірно, пов'язане зі збільшенням концентрації субстрату ензиму (рис. 1). Отже, під час дії рентгенівського опромінення порушується співвідношення NO-синтазного та аргіназного метаболізму L-аргініну на тлі активації окисного шляху.

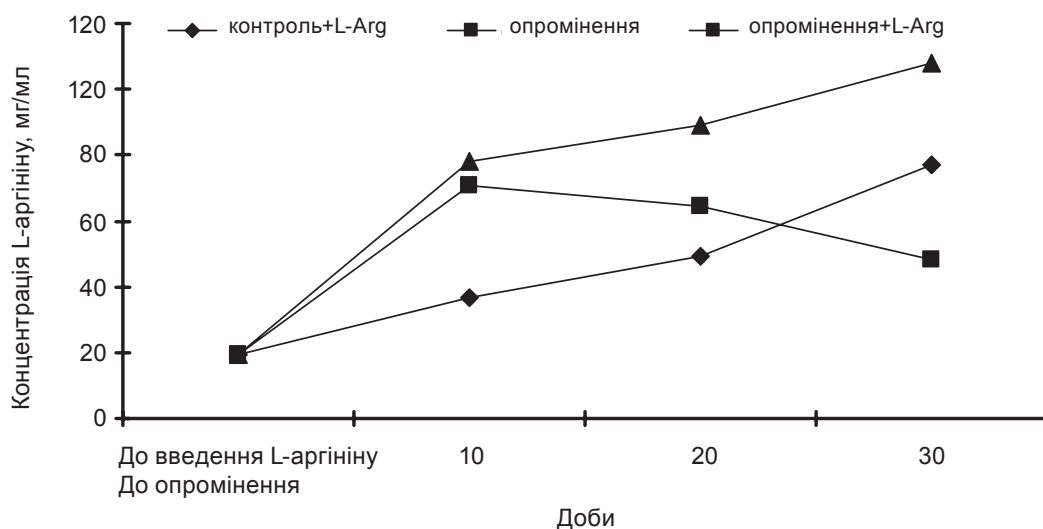


Рис. 1. Зміни концентрації вільного L-аргініну у плазмі крові щурів після введення їм *per os* L-аргініну. Тут і на рис. 2, 3, 5, 7, 8 – Arg – аргіназа

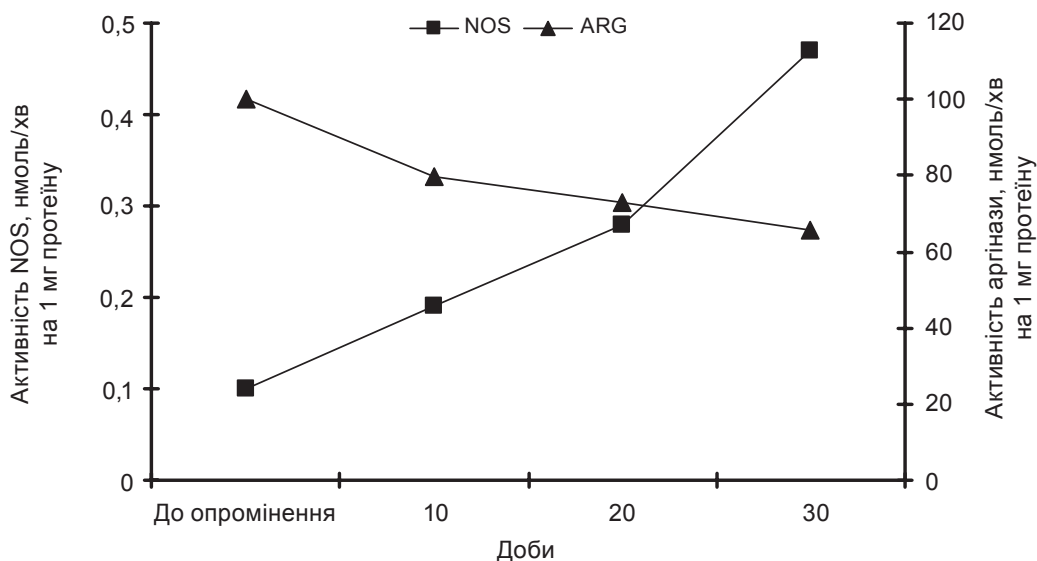


Рис. 2. Зміни активності NO-синтази та аргінази в лейкоцитах крові опромінених щурів на тлі введення їм L-аргініну. Тут і на рис. 3, 5, 7 та 8: NOS – NO-синтаза

На наступному етапі досліджень контрольним і опроміненим щурам вводили екзогенний L-аргінін, після чого визначали досліджувані показники в лейкоцитах периферичної крові. Введення екзогенного L-аргініну неопроміненим тваринам супроводжувалося зменшенням активності NOS на 10-, 20- та 30-у доби експерименту у 1,3; 2 та 2,5 рази відповідно. При цьому активність аргінази знижується незначно (рис. 3).

Пригнічення активності NOS та аргінази введенням щурам L-аргініну здійснюється, ймовірно, за кількома механізмами (рис. 4). Зокрема, продукти аргіназної реакції є інгібіторами NOS, а цитрулін (продукт окисного перетворення L-аргініну), з одного боку, є попередником синтезу L-аргініну de novo, а з іншого, – інгібітором окисного метаболізму за принципом негативного зворотного зв'язку (рис. 4). Аналогічно орнітин і сечовина інгі-

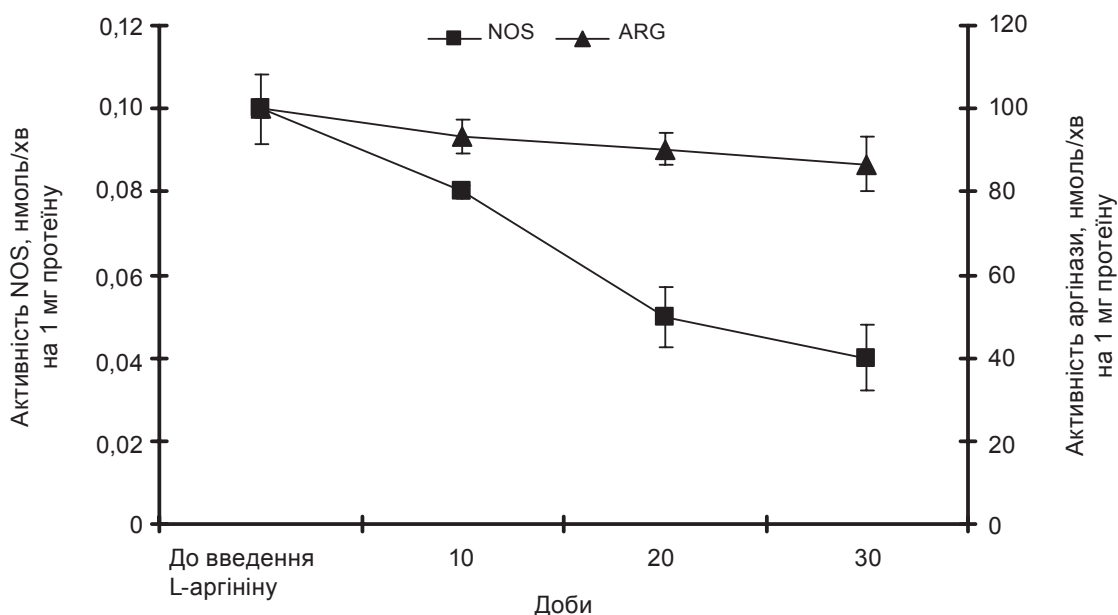


Рис. 3. Зміна активності NO-синтази та аргінази в лейкоцитах крові опромінених щурів на тлі введення їм per os L-аргініну

бують неокисний метаболізм L-аргініну. Пригнічення активності NOS, вірогідно, здійснюється також через підвищення концентрації кінцевого продукту метаболізму, оскільки NO зв'язується з гемом цього ензиму, і у, такий спосіб, або пригнічує його активність, або обмежує димеризацію NOS [17]. Крім того, активність NOS інгібується агматином – продуктом перетворення L-аргініну і попередником синтезу поліамінів, який інгібує всі ізоформи ензиму [15]. Слід також відзначити, що проміжний продукт NO-синтазної реакції – NG-гідроксил-L-аргінін – є потенційним інгібітором аргінази (рис. 4) [7,16,23].

Введення щурам екзогенного L-аргініну в разі їхнього опромінення на 10-у добу експерименту призводить до різноспрямованих змін активності досліджуваних ензимів порівняно з контрольними: активність NOS зростає у 1,6 раза, а аргінази знижується у 1,2 раза. На 20- та 30-у доби експерименту спостерігається вирівнювання кривої, яка віддзеркалює ак-

тивність NOS, проте порівняно з показниками у опромінених тварин активність ензиму зменшується у 2,0 та 3,6 раза відповідно (рис. 5). Активність аргінази знижується поступово, але залишається в межах показників для тварин, що зазнали лише опромінення.

Отже, в перші 10 днів введення опроміненим щурам L-аргініну активується окисний шлях його метаболізму. Слід зауважити, що L-аргінін протягом 20 та 30 діб позитивно впливає на NOS, коригуючи її активність.

Аналіз наведеної (рис. 4) схеми дає можливість стверджувати, що інгібування досліджуваних ензимів введенням L-аргініну контрольним та опроміненим тваринам відбувається не їхнім субстратом (аргініном), а продуктами цих ензиматичних реакцій.

У контролі за дії на тварин L-NAME концентрація вільного L-аргініну у плазмі крові на 10- і 20-у доби експерименту зростає у 2,6 раза, збільшуючись на 30-у добу до 3,5 раза (рис. 6). Це може бути пов'язане з інгібуванням актив-

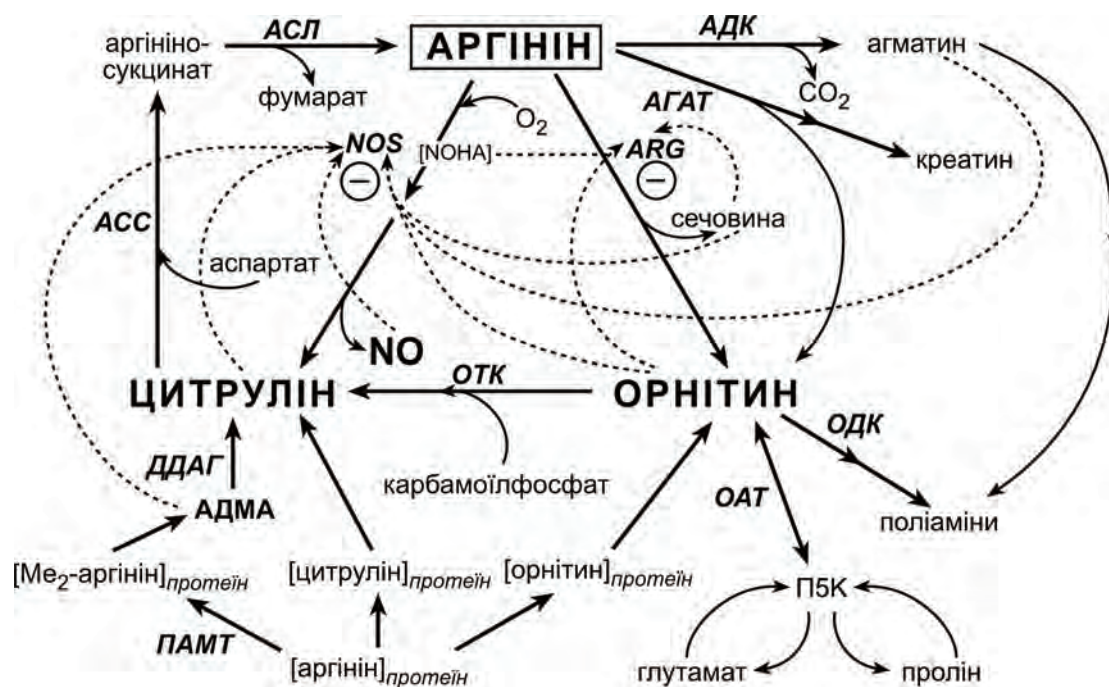


Рис. 4. Шляхи метаболізму аргініну в організмі ссавців.

Скорочення на рисунку: AGAT (КФ 2.1.4.1) – аргінін: гліцинамінотрансфераза; АДК (КФ 4.1.1.19) – аргініндекарбоксилаза; АДМА – асиметричний диметиларгінін; АСЛ (КФ 4.3.2.1) – аргінінсукцинат-ліаза; АСС (КФ 6.3.4.5) – аргінінсукцинат-синтаза; ARG (КФ 3.5.3.1) – аргіназа; ДДАГ (КФ 3.5.3.18) – диметиларгініндиметиламіногідролаза; Me₂ – диметил; NOHA – N^G-гідрокси-L-аргінін; NOS (КФ 1.14.13.39) – NO-синтаза; ОАТ (КФ 2.6.1.13) – L-орнітинамінотрансфераза; ОДК (КФ 4.1.1.17) – орнітиндекарбоксилаза; ОТК (КФ 2.1.3.3) – орнітинтранскарбамілаза; ПАМТ (КФ 2.1.1.23) – протеїн(аргінін)-метилтрансфераза; P₅K – пролін-5-карбоксилат.

Інгібування ензимів позначено пунктирною лінією

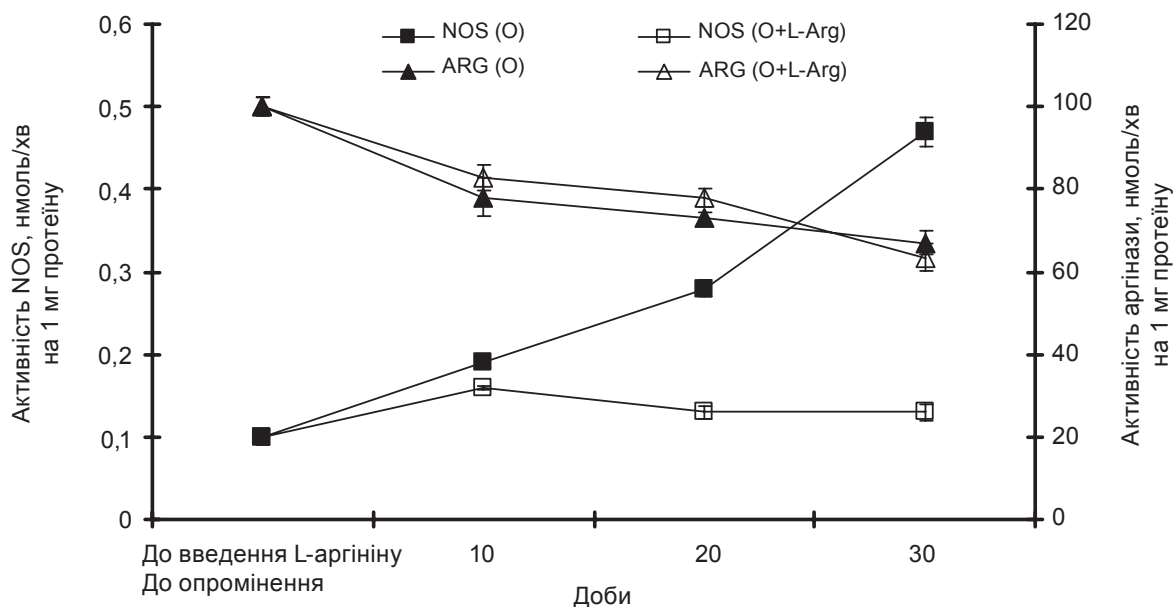


Рис. 5. Зміни активності NO-синтази та аргінази в лейкоцитах крові опромінених щурів на тлі введення їм L-аргініну

ності NOS за вищенаведених умов (рис. 7). Введення опроміненим щурам L-NAME не впливає на концентрацію вільного L-аргініну у плазмі крові і залишається в межах показників у опромінених тварин, яким L-NAME не вводили (рис. 6).

Динаміка змін активності ензимів окисного та неокисного шляхів метаболізму L-аргініну після введення щурам L-NAME має однако-ву спрямованість. Так, активність NO-синтази на 10-, 20-, 30-у доби порівняно з контролем

знижується у 2,0; 2,8 та 3 рази, а аргінази – в 1,5; 1,7 та 2,4 рази відповідно (рис. 7).

У разі комбінованого впливу на щурів опромінення та L-NAME спостерігається зменшення активності NOS на 10-, 20- і 30-ту доби – у 1,3; 2,5 та 4,7 рази відповідно. Активність аргінази при цьому знижується в 1,2; 1,3 та 1,6 рази порівняно зі щурами, які зазнали лише опромінення (рис. 8).

Отже, при введенні до організму неселективного інгібітора NOS у контрольних та

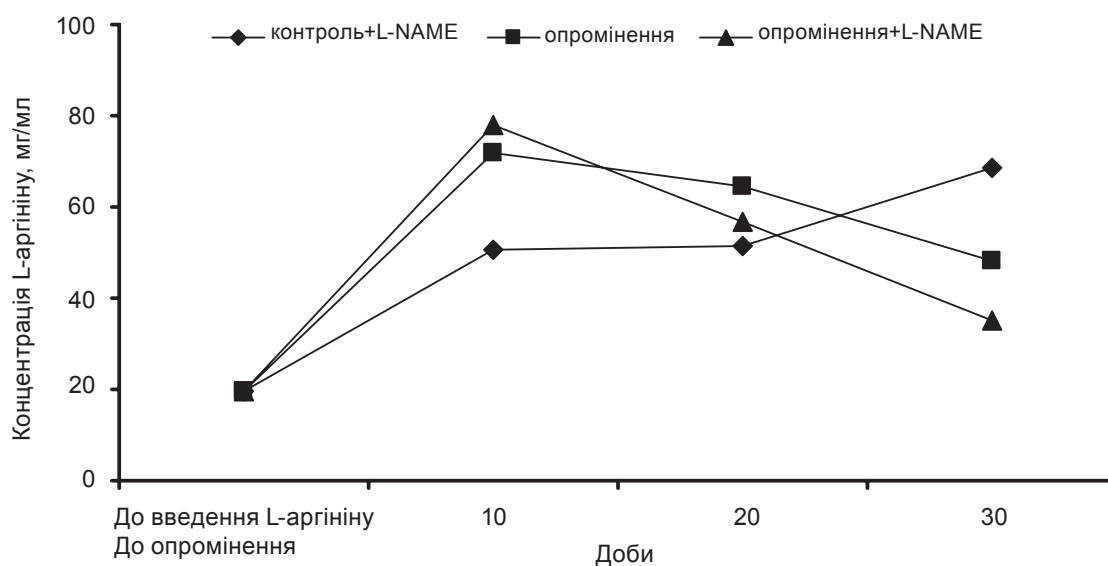


Рис. 6. Зміни концентрації вільного L-аргініну у плазмі крові щурів на тлі введення їм L-NAME

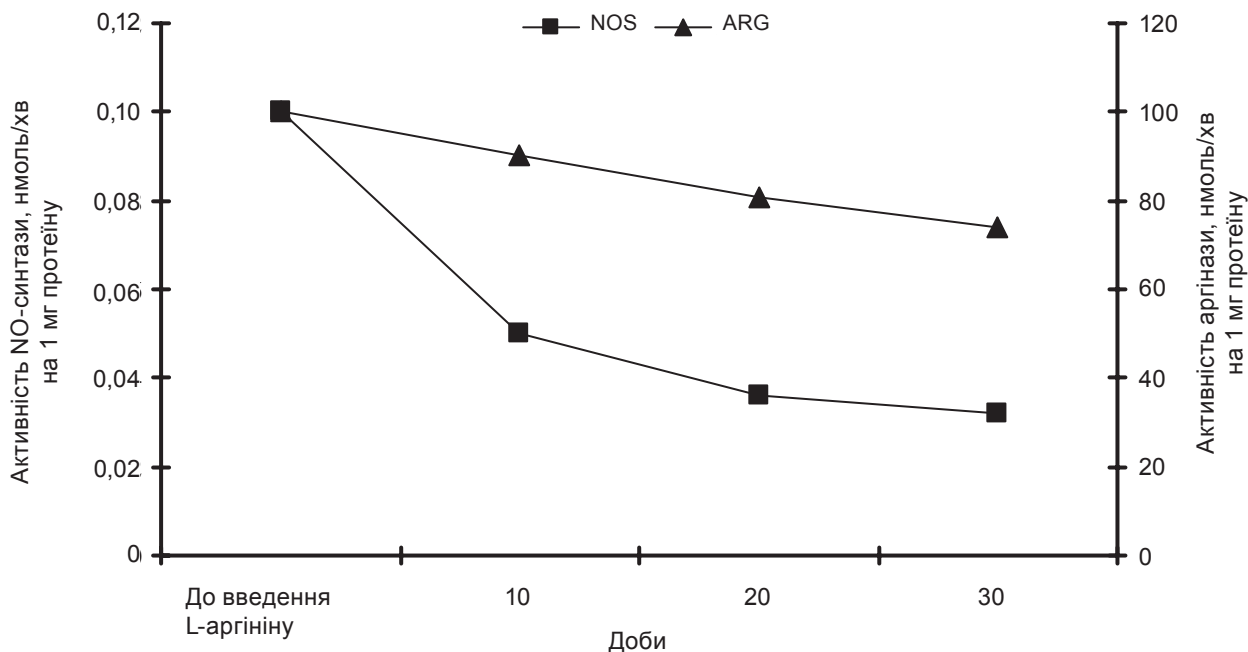


Рис. 7. Зміни активності NO-синтази та аргінази у лейкоцитах крові контрольних щурів на тлі введення їм L-NAME

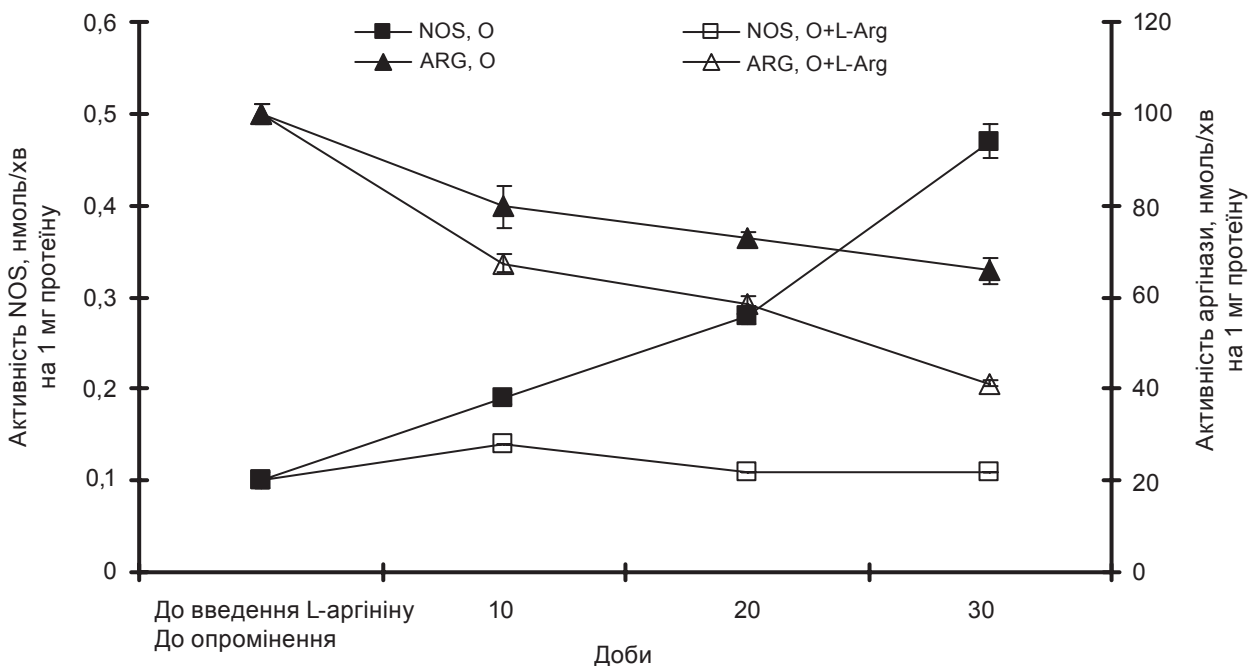


Рис. 8. Зміни активності NO-синтази та аргінази в лейкоцитах опромінених щурів на тлі введення їм L-NAME

опромінених щурів активність досліджуваних ензимів гальмується. Ці зміни можна пояснити таким механізмом: за пригнічення окисного шляху (інгібується активність NOS) активується неокисний метаболізм, що призводить до надсинтезу сечовини. У свою чергу,

продукти аргіназної реакції – орнітин та сечовина – пригнічують неокисний метаболізм за механізмом негативного зворотного зв'язку, що і спричинює зменшення активності аргінази (рис. 4).

Таким чином, одержані нами результати показують:

– За хронічного рентгенівського опромінення у плазмі крові щурів підвищується концентрація вільного L-аргініну та інтенсифікується окисний шлях його метаболізму, що експериментально підтверджується підвищенням активності NOS на тлі одночасного зниження активності аргінази в лейкоцитах.

– Введення щурам L-аргініну у запропонованих нами дозах як у контрольних, так і в опромінених тварин інгібує активність NOS через пригнічення її надлишком оксиду азоту за типом негативного зворотного зв'язку. Активність аргінази за цих умов вірогідно не змінюється.

– За введення до організму L-NAME зниження активності NOS у контрольних та опромінених тварин відбувається внаслідок прямої інгібувальної дії неселективного інгібітора ензиму. На тлі підвищення концентрації L-аргініну за зазначених умов, імовірно, активується неокисний шлях метаболізму цієї амінокислоти, що зумовлює надсинтез сечовини і орнітину, які лімітують активність аргінази.

Таким чином, одержані нами дані свідчать, що L-аргінін і L-NAME мають позитивний коригувальний вплив на організм, знижуючи надпродукцію NO за хронічного рентгенівського опромінення тварин.

ОСОБЕННОСТИ АРГИНАЗНОГО И NO-СИНТАЗНОГО ПУТЕЙ МЕТАБОЛИЗМА L-АРГИНИНА В ЛЕЙКОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОГО РЕНТГЕНОВСКОГО ОБЛУЧЕНИЯ

Ю. В. Перетятко, Н. А. Сибирная

Львовский национальный университет
имени Ивана Франко, Украина;
e-mail: yulia.peretyatko@gmail.com

Аргинин участвует во многих метаболических процессах в клетке. Он не только вовлекается в динамический цикл взаимопревращения с аминокислотами пролином и глутамином, но также служит предшественником синтеза протеинов, оксида азота, креатина, полиаминов, агматина и мочевины.

Исследованы особенности аргиназного и NO-синтазного путей превращения L-аргина при хроническом рентгеновском облучении животных в радиочувствительных клетках периферической крови – лейкоцитах – на фоне

введения им per os L-аргина и L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester).

Показано, что как L-аргинин (главный субстрат NO-синтазы и аргиназы), так и L-NAME (неселективный ингибитор NO-синтазы) оказывает положительное корригирующее влияние на организм, снижая сверхпродукцию NO в условиях хронического действия радиации.

Ключевые слова: аргиназа, L-аргинин, лейкоциты, оксид азота, NO-синтаза, плазма крови, рентгеновское облучение.

PARTICULARITIES OF ARGINASE AND NO-SYNTHASE PATHWAYS OF L-ARGININE CONVERSION IN THE LEUCOCYTES OF PERIPHERAL BLOOD UNDER THE X-RAY RADIATION

Yu. V. Peretyatko, N. O. Sybirna

Ivan Franko Lviv National University, Ukraine;
e-mail: yulia.peretyatko@gmail.com

S u m m a r y

Arginine takes part in many metabolic cell processes. It is not only involved in the dynamic cycle of interconversion with prolin and glutamine but also serves as a precursor for protein, nitric oxide, creatine, polyamines, agmatine and urea synthesis.

Particularities of arginase and NO-synthase pathways of L-arginine conversion under the X-ray radiation in the leucocytes – radiosensitive cells of peripheral blood, under the per os administration of L-arginine and L-NAME (NG-nitro-L-arginine methyl ester) to rats were detected.

It was shown that both L-arginine (arginase and NO-synthase main substrate) and L-NAME (nonspecific inhibitor of NO-synthase) had a positive correct influence on the organism in case of decreasing of NO overproduction under the X-ray radiation.

Key words: arginase, L-arginine, leucocytes, nitric oxide, NO-synthase, plasma.

1. Чернишов А. В. // Укр. мед. часопис. – 2004. – № 5 (43). – С. 120–123.
2. Коляда Т., Брусник С., Андреева И. и др. // An. Mechnikov Institute. – 2007. – № 3. – P. 17–22.
3. Сахно Т., Давидова Т., Чумак А. // Укр. радіол. журн. – 1997. – № 5. – С. 87–89.
4. Бесериль Арагон Г., Старикович Л., Верніковська Я. та ін. // Вісн. Львів. ун-ту, серія біол. – 2000. – вип. 26. – С. 21–26.

5. Кострюкова Н., Карпин В. // Сибир. мед. журн. – 2005. – **50**, № 1. – С. 17–22.
6. Старикович Л., Дацюк Л., Старанко У. та ін. // Лабор. діагн. – 2008. – № 1. – С. 57–60.
7. Galea E., Regunathan S., Eliopoulos V. et al. // Biochem. J. – 1996. – **316**. – P. 247–249.
8. Кратенко Р. // Укр. радіол. журн. – 2006. – № 14. – С. 264–267.
9. Скулачев В. // Сорос. образ. журн. – 1999. – № 9. – С. 1–7.
10. Скулачев В. // Там же. – 2001. – **7**, № 6. – С. 4–10.
11. Стекле Ж.-К., Мюле Б., Андрианцитохайна Р., Клещев А. // Биохимия. – 1998. – **63**, вип. 7. С. 976–983.
12. Чеснокова Н., Понукалина Е., Бизенкова М. // Современ. наукоемкие технологии. – 2006. – № 6. – С. 28–34.
13. Crowell J., Steele V., Sigman C., Fay J. // Mol. cancer therap. – 2003. – **2**. – P. 815–823.
14. Сагач В., Присяжна О., Ткаченко М., Коцюрuba А. // Фізіол. журн. – 2005. – **51**, № 2. – С. 3–7.
15. Durante W., Johnson F. K., Johnson R. A. // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. – 2007. – **34**, N 9. – P. 906–911.
16. Mielczarek-Puta M., Chrzanowska A., Grabon W., Baranczyk-Kuzma A. // Postepy Hig Med Dosw. (online). – 2008. – **62**. – P. 214–221.
17. Бродяк І. В., Сибірна Н. О. // Фізіол. журн. – 2008. – **54**, № 1. – С. 63–68.
18. Качменюк Г. // Вісн. Львів. ун-ту. Серія біол. – 2007. – Вип. 37. – С. 45–48.
19. Лаповець Л., Луцик Б. Лабор. імунологія. – К.: 2004. – 173 с.
20. Peterson G. // Anal. Biochem. – 1977. – **83**, N 2. – P. 346–356.
21. Mori M., Gotoh T. // Biochem. and Bioph. Res. Commun. – 2000. – **275**. – P. 715–719.
22. Sonoki T., Nagasaki A., Gotoh T. et al. // J. Biol. Chem. – 1997. – **272**, N 6. – P. 3689–3693.
23. Morris S. Jr. // J. Nutr. – 2007. – **137**. – P. 1602–1609.

Отримано 02.02.2009