

Г. С. ХАЧАТРЯН, Н. Р. АЗГАЛДЯН

ОБМЕН ГЛИКОГЕНА И ЕГО РАЗЛИЧНЫХ ФОРМ В МОЗГУ ПРИ ТЕРМИНАЛЬНЫХ СОСТОЯНИЯХ

В наших прежних работах [2] было показано, что пищевое возбуждение вызывает увеличение содержания гликогена в мозгу, связанного с белками, а торможение (условное), наоборот, приводит к значительному уменьшению его количества, при котором содержание свободного и связанного с липоидами гликогена значительно увеличивается. Изучение ферментного механизма перераспределения различных форм гликогена при физиологических воздействиях выявило интенсивное течение гликогенсинтезного пути обмена глюкозы в мозгу при возбуждении [7, 8, 9]. В настоящем исследовании ставилась задача изучить некоторые стороны механизма распада и синтеза гликогена и его различных форм при терминальных состояниях — при клинической смерти и последующем восстановлении жизненных функций организма.

Экспериментальная часть и методы исследования. Опыты ставились на белых крысах-самцах весом в 150—200 г. Животных держали на смешанном постоянном рационе. Было проведено пять серий экспериментов.

Первая серия опытов служила контролем (интактные крысы): у крыс определяли содержание общего, свободного гликогена, гликогена, связанного с белками и липоидами, активность α -амилазы и α -глюканфосфорилазы в мозгу. Экспериментальных животных второй и последующих серий подвергали уретановому наркозу в дозе 100 мг/100 г веса животного внутрибрюшинным введением. При этом учитывали, что уретан в указанной дозе не прекращает сверхмедленных колебаний потенциалов коры мозга [1]. Во второй серии опытов на фоне уретанового наркоза изучались также содержание различных форм гликогена и активность ферментов, расщепляющих их.

В третьей серии на фоне уретанового наркоза производилось кровопускание для получения модели клинической смерти [3, 4] и на четвертой минуте после начала кровопускания производилось определение содержания гликогена, его различных форм и активности указанных ферментов. В четвертой серии на фоне уретанового наркоза и кровопускания вызывалась клиническая смерть. Исчезновение биоэлектрической активности коры мозга и корнеального рефлекса, прекращение дыхания и полный выход крови из организма отмечались в среднем на восьмой минуте после начала кровопускания, и это считалось фоном клинической смерти, на котором также изучались сдвиги в содержании гликогена, его различных форм и активность изучаемых нами ферментов в мозгу. На фоне клинической смерти производилось оживление организма путем внутриартериального нагнетания выпущенной крови до появления корнеального рефлекса, дыхательной ритмики и биоэлектрической активности коры мозга. На 20 мин, а в некоторых случаях и на 10-ой после начала оживления, изучались те же сдвиги в обмене гликогена в мозгу, что и в предыдущих сериях. Все подопытные крысы после установления требуемого фона подвергались замораживанию в жидком азоте. Данные

электрокортикограммы, электрокардиограммы и дыхательной ритмики при описанных функциональных состояниях во всех сериях опытов были представлены в нашем первом сообщении [9].

Извлечение гликогена и его различных форм производилось по методу Пфлюгера в нашем видоизменении [2, 5, 7]. Замороженная мозговая ткань экстрагировалась 95° этанолом на водяной бане (при 100°C в течение 10 мин) в специальных центрифужных пробирках с обратными холодильниками; при этом свертывались белки и приостанавливались ферментные реакции, могущие привести к гликогенолизу. Осадок экстрагировался по два раза смесью этанола и эфира (3:1), метанола и хлороформа (1:1) в течение 60 мин и затем эфиром. Экстракты собирались и подвергались отгонке. Полученный осадок гидролизовался в 10% КОН в течение 3 час. при 100°C. Гидролизат переносился в длительную воронку, и оставшиеся липиды извлекались три раза 20-кратным объемом эфира. Гликоген, находящийся в водной вытяжке, осаждался 95° этанолом и промывался 60° и 75° этанолом соответственно до очищения; при этом удалялись свободные сахара и их фосфорные эфиры. После удаления гликогена, связанного с липоидами, производилось фракционирование водорастворимого свободного гликогена в тех же пробирках путем шестикратного экстрагирования осадка водой, который после отделения свободного гликогена подвергался щелочному гидролизу 30% КОН в течение 45 мин при 100°C для получения гликогена, связанного с белками. В гидролизате гликоген осаждался 95° этанолом и тщательно промывался теми же растворами этанола, хлороформа, метанола и эфира, которые применялись для липоидной фракции его. Высушенный осадок растворялся в воде. Конечное определение всех форм гликогена проводилось по цветной реакции с антроном методом Морриса [14] при $\lambda=620$ м μ .

Активность α -амилазы определялась по Смуту и Рою [15]. За единицу амилазной активности принимали количество фермента, катализирующего в условиях опыта (30 мг гликогена) расщепление 10 мг гликогена за 30 мин при 37°C до отсутствия окраски с йодом при $\lambda=620$ м μ . Активность α -глюканфосфорилазы определялась по методу Кори [10] и выражалась в количестве связываемого при расщеплении гликогена фосфором ортофосфата в μ М/г свежей мозговой ткани за 60 мин при 37°C. Фосфор определяли по методу Фиске-Суббароу [11].

Сдвиги в содержании различных форм гликогена. Как показывают данные табл. 1, содержание свободного гликогена, гликогена, связанного с белками и липоидами, по средним данным 8 опытов, соответственно составляет $16,86 \pm 0,59$; $57,93 \pm 1,67$; $21,20 \pm 0,84$ мг%, содержание общего гликогена— $94,79 \pm 2,06$ мг%.

Таблица 1

Сдвиги в содержании различных форм гликогена в мозгу белых крыс, мг% (контроль)

Средние данные	Свободный гликоген	Гликоген, связанный с белками	Гликоген, связанный с липидами	Общий гликоген
$M \pm m$ n σ	$16,86 \pm 0,59$ (8) $\pm 1,67$	$57,93 \pm 1,67$ (8) $\pm 4,72$	$21,20 \pm 0,84$ (8) $\pm 2,37$	$94,79 \pm 2,06$ (8) $\pm 5,82$

После установления определенного фона содержания гликогена и его различных форм в мозгу крыс контрольной группы мы перешли к изучению тех же сдвигов на фоне уретанового наркоза (табл. 2).

Как явствует из данных табл. 2, на фоне уретанового наркоза содержание свободного гликогена по сравнению с контролем увеличива-

Таблица 2

Сдвиги в содержании различных форм гликогена в мозгу белых крыс при уретановом наркозе, мг %

Средние данные	Гликоген свободный	Гликоген, связанный с белками	Гликоген, связанный с липидами	Общий гликоген
$M \pm m$	$27,78 \pm 1,27$	$52,35 \pm 2,60$	$20,67 \pm 1,65$	$100,44 \pm 2,76$
n	(7)	(7)	(7)	(7)
σ	$\pm 3,375$	$\pm 6,98$	$\pm 4,37$	$\pm 7,215$
P	$< 0,01$	$< 0,6$	$< 0,8$	$< 0,05$

ется и составляет $27,78 \pm 1,27$ мг %. Количество гликогена, связанного с белками и липоидами, соответственно составляет $52,35 \pm 2,60$; $20,67 \pm 1,65$ мг %; при этом содержание общего гликогена составляет $100,44 \pm 2,76$ мг %. Приведенные данные являются средними 7 опытов. Таким образом, при уретановом наркозе увеличивается содержание свободного гликогена в пределах достоверности ($P < 0,01$), между тем как количество белкового гликогена и гликогена, связанного с липоидами, несколько уменьшается (при этом отмечается также незначительное повышение содержания общего гликогена).

Сопоставив полученные данные с контролем, мы приступили к кровопусканию для получения модели клинической смерти и на четвертой минуте после его начала зарегистрировали содержание гликогена и его различных форм в мозгу (табл. 3).

Таблица 3

Сдвиги в содержании различных форм гликогена в мозгу белых крыс при кровопускании, мг %

Средние данные	Свободный гликоген	Гликоген, связанный с белками	Гликоген, связанный с липидами	Общий гликоген
$M \pm m$	$24,43 \pm 1,29$	$57,04 \pm 2,57$	$23,65 \pm 1,97$	$95,38 \pm 3,95$
n	(8)	(8)	(8)	(8)
σ	$\pm 3,67$	$\pm 8,26$	$\pm 5,59$	$\pm 11,18$
P	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,3$	$< 0,9$

Исследуемые нами показатели, зарегистрированные на четвертой минуте после кровопускания, особым изменениям не подверглись. Содержание свободного гликогена, гликогена, связанного с белками и липоидами, соответственно составляло $24,43 \pm 1,29$; $57,04 \pm 2,57$; $23,65 \pm 1,97$ мг %. Содержание общего гликогена— $95,38 \pm 3,95$ мг %.

Как на наркозном фоне, так и при кровопускании содержание свободного гликогена несколько повышается, тогда как другие фракции его при этом особым изменениям не подвергаются.

Интересные результаты были получены на фоне клинической смерти, полученные на 8 мин от начала кровопускания. При полном электрическом молчании коры мозга [9], при отсутствии сердечной и дыхатель-

ной ритмики и почти полном обескровливании животного было зарегистрировано содержание гликогена и его различных форм в мозгу и установлены значительные изменения (табл. 4). В этом случае, по сравне-

Таблица 4

Сдвиги в содержании различных форм гликогена в мозгу белых крыс при клинической смерти, мг %

Средние данные	Свободный гликоген	Гликоген, связанный с белками	Гликоген, связанный с липидами	Общий гликоген
$M \pm m$	$38,01 \pm 1,61$	$37,17 \pm 1,97$	$25,48 \pm 1,48$	$100,95 \pm 1,78$
n	(12)	(12)	(12)	(12)
σ	$\pm 5,58$	$\pm 6,85$	$\pm 5,135$	$\pm 6,16$
P	$< 0,001$	$< 0,01$	$< 0,05$	$< 0,05$

нию с данными контрольных опытов и опытов с уретановым наркозом и кровопусканием, содержание свободного гликогена резко увеличивается и доходит до $38,01 \pm 1,61$ мг % ($16,86 \pm 0,59$ мг % — в контрольных опытах, $27,78 \pm 1,27$ мг % — при уретановом наркозе и $24,43 \pm 1,29$ — при кровопускании). Содержание гликогена, связанного с белками, уменьшилось почти в два раза и составило $37,17 \pm 1,97$ ($57,93 \pm 1,67$; $52,35 \pm \pm 2,60$; $57,04 \pm 2,57$ мг % — соответственно в контрольной группе, при уретановом наркозе и кровопускании). Содержание общего и липоидного гликогена особым изменениям не подверглось ($P < 0,05$).

На фоне клинической смерти при отсутствии корнеальных рефлексов, сердечной и дыхательной ритмики и полном электрическом молчании мозга в пятой серии опытов мы приступили к оживлению животных. После восстановления биоэлектрической активности мозга, сердечной и дыхательной ритмики и других жизненных функций организма [9] на 20 мин приступили к изучению содержания гликогена и его различных форм.

Таблица 5

Сдвиги в содержании различных форм гликогена в мозгу белых крыс при оживлении организма, мг %

Средние данные	Свободный гликоген	Гликоген, связанный с белками	Гликоген, связанный с липидами	Общий гликоген
$M \pm m$	$20,14 \pm 1,72$	$56,12 \pm 1,90$	$13,94 \pm 0,82$	$94,91 \pm 2,98$
n	(13)	(13)	(13)	(13)
σ	$\pm 5,975$	$\pm 7,075$	$\pm 2,97$	$\pm 10,56$
P	$< 0,1$	$< 0,8$	$< 0,01$	$< 0,9$

Данные, приведенные в табл. 5, показывают перераспределение в различных формах гликогена при оживлении организма. На 20 мин показатели гликогена и его различных форм соответствовали таковым контроля, опытов с уретановым наркозом и кровопусканием и резко отличались от данных, установленных при клинической смерти. Содер-

жание свободного гликогена в этом случае значительно уменьшается и доходит до $20,14 \pm 1,72$ мг% ($38,01 \pm 1,61$ мг% — при клинической смерти), тогда как белковый гликоген значительно нарастает и доходит до нормального уровня, $56,12 \pm 1,90$ мг% ($37,17 \pm 1,97$ мг% — при клинической смерти). При оживлении организма значительно уменьшается содержание гликогена, связанного с липидами.

Изменение активности α -амилазы (КФ 3.2.1.1 α -1,4-глюкан-4-глюканогидролаза) и α -глюканфосфорилазы (2.4.1.1 α -1,4-глюкан: ортофосфат-глюкозилтрансфераза) в мозгу. Для выяснения механизма перераспределения в различных формах гликогена при терминальных состояниях мы приступили к изучению изменений в активности ферментов, участвующих в распаде и синтезе гликогена и его различных форм при тех же состояниях. Изменение активности α -амилазы при изучаемых нами функциональных состояниях приведено в табл. 6.

Таблица 6
Активность α -амилазы в мозгу при терминальных состояниях.
Число единиц амилазы на 100 г ткани

Контроль	Уретановый наркоз	Кровопускание	Клиническая смерть	Оживление
$M \pm m$ 67,16 \pm 3,92	92,85 \pm 1,04	172,28 \pm 12,33	311,72 \pm 24,18	45,34 \pm 2,7
n (8)	(7)	(10)	(7)	(6)
σ $\pm 10,40$	$\pm 2,77$	$\pm 40,00$	$\pm 63,85$	$\pm 6,85$
P	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01

По средним данным 8 контрольных опытов, активность α -амилазы в мозгу в норме составляет $67,16 \pm 3,92$ ед. По данным 7 опытов с уретановым наркозом, активность фермента повышается, доходя до $92,85 \pm 1,04$ ед. Активность α -амилазы повышается при кровопускании более чем в два раза, по сравнению с данными контрольных опытов, и доходит до $172,28 \pm 12,33$ ед. (средние данные 10 опытов). Интересны результаты опытов на фоне клинической смерти: при полном отсутствии биоэлектрической активности мозга в ткани его протекают интенсивные каталитические процессы, направленные на распад гликогена и его различных форм. Активность α -амилазы, по средним данным 7 опытов, доходит до $311,72 \pm 24,18$ ед., что превышает уровень контрольных опытов более чем в четыре раза, уретанового наркоза — более чем в три раза, кровопускания — почти в два раза. Произведенное оживление на 20 мин выявило значительное снижение активности α -амилазы до уровня контроля, хотя кривые биоэлектрической активности мозга, сердечной деятельности и дыхательной ритмики приходили в норму за 20—30 мин после начала оживления. Активность α -амилазы при этом составляла $45,34 \pm 2,78$ ед. (средние данные 6 опытов).

Интересно было проследить и за изменением активности α -глюканфосфорилазы при тех же терминальных состояниях организма. По данным табл. 7, активность α -глюканфосфорилазы составляет $9,62 \pm 1,38$ μ М/г час. (средние данные 9 опытов). Уретановый наркоз повышает ак-

тивность ее. По данным шести опытов с уретановым наркозом, активность этого фермента составляет $22,70 \pm 1,48$ $\mu\text{M}/\text{г час}$. При кровопускании и клинической смерти она в три, четыре раза повышается (по сравнению с данными контрольных опытов и опытов с уретановым наркозом). Повышение активности α -глюканфосфорилазы при уретановом наркозе, по сравнению с контрольным фоном, также достоверно ($P < 0,001$). Активность α -глюканфосфорилазы при указанных терминальных состояниях соответственно составляла $27,66 \pm 2,05$ $\mu\text{M}/\text{г час}$. (средние данные 6 опытов) и $37,81 \pm 3,18$ $\mu\text{M}/\text{г час}$. (средние данные 7 опытов) против $9,62 \pm 1,38$ и $22,70 \pm 1,48$ $\mu\text{M}/\text{г час}$ в контрольных опытах при уретановом наркозе. После изучения изменений в активности α -глюканфосфорилазы в мозгу при клинической смерти мы произвели оживление экспериментальных животных последующей серии опытов. Как показывают данные таблицы, на фоне оживления на 20 мин отмечалось достоверное снижение активности α -глюканфосфорилазы, по сравнению с данными терминального состояния кровопускания и клинической смерти. Однако уровень активности фермента оставался на значительно высоком уровне, $17,43 \pm 0,35$ $\mu\text{M}/\text{г час}$. (данные 5 опытов), не доходя до уровня контрольных опытов, но при этом активность изучаемого нами фермента на 20 мин после оживления оставалась ниже уровня активности его в опытах с уретановым наркозом.

Таблица 7

Активность α -глюканфосфорилазы в мозгу при терминальных состояниях.Убыль Р ортофосфата в $\mu\text{M}/\text{г}$ ткани, час

Контроль	Уретановый наркоз	Кровопускание	Клиническая смерть	Оживление
$M \pm m$ 9,62 \pm 1,38	22,70 \pm 1,48	27,66 \pm 2,05	37,81 \pm 3,18	17,43 \pm 0,35
n (9)	(6)	(6)	(7)	(5)
σ \pm 4,15	\pm 3,92	\pm 5,00	\pm 8,42	\pm 0,8
P	<0,001	<0,02	<0,001	<0,001

Полученные данные показывают, что уретановый наркоз вызывает некоторое повышение содержания свободного и связанного с липоидами гликогена. Это явление мы склонны объяснить уменьшением утилизации гликогена в мозгу на фоне торможения, наступившего под влиянием наркоза. Значительное понижение содержания белкового связанного гликогена при клинической смерти, а также резкое нарастание свободного гликогена при этом, по сравнению с данными контрольных опытов, при полном электрическом молчании активности коры мозга, говорят об интенсивном течении обменных процессов в мозгу, несмотря на то, что электрофизиологический тест (ЭЭГ) не выявляет глубины метаболической активности мозга. Эти значительные сдвиги направлены на перераспределение энергетических ресурсов и пластических веществ.

Каков механизм этих значительных сдвигов и перераспределений энергетических и пластических субстанций в мозгу при клинической смерти?

Полученные данные в отношении изменения активности α -амилазы и α -глюканфосфорилазы в мозгу частично отвечают на поставленный вопрос. При терминальных состояниях, в особенности в процессе вызывания экспериментальной клинической смерти и в период ее становления, значительно увеличивается активность указанных ферментов, которая направлена на расщепление гликогена при перераспределении его различных форм. По данным наших опытов, наиболее активной формой гликогена мозга, легко подвергаемой влиянию изучаемых нами ферментов, является гликоген, связанный с белками, и свободный гликоген. Объектом атаки α -амилазы и α -глюканфосфорилазы преимущественно становятся эти формы гликогена мозга. За счет гликогена, связанного с белками, при полном электрическом молчании мозга, происходит перераспределение в различных формах гликогена, направленное на экономию нервной клетки мозга, необходимой для биосинтетического обеспечения энергетических субстратов в крайне тяжелых состояниях организма и последующем оживлении его. Приведенные данные, а также данные, полученные в нашей лаборатории относительно обмена гликогена и его различных форм в мозгу при воздействии физиологически адекватных раздражителей, дают нам основание объяснить сдвиги в обмене гликогена и его различных форм при терминальных состояниях аллостерической индукцией ферментных реакций, вызванных кровопусканием, и наступающим торможением коры мозга, являющихся следствием наступившей аноксии, отсутствия или недостаточного поступления энергетических веществ в мозг. Прямая количественная биохимическая регистрация функционального состояния мозга при терминальных состояниях организма является более сложной и требует дальнейшего, всестороннего и глубокого изучения.

Полученные данные дали основание установить некоторые закономерности. В начальный период экспериментальной клинической смерти содержание различных форм гликогена в мозгу по сравнению с наркозным фоном особых изменений не претерпевает. Активность α -амилазы повышается почти в два раза, тогда как α -глюканфосфорилазная активность изменяется незначительно в сторону повышения. Клиническая смерть, наступившая на восьмой мин, при полном отсутствии электрической активности мозга, вызывает значительное перераспределение в различных формах гликогена. При этом содержание белкового гликогена уменьшается почти в два, а количество свободного гликогена увеличивается в три раза. Происходит значительное повышение активности α -амилазы и α -глюканфосфорилазы. Уменьшение содержания гликогена, связанного с белками, и увеличение его свободной формы в мозгу при клинической смерти соответствует наибольшему повышению активности изучаемых нами ферментов. Наиболее активной формой гликогена, атакуемой α -амилазой и α -глюканфосфорилазой при терминальных состояниях, в особенности при экспериментальной клинической смерти, является гликоген, связанный с белками.

При восстановлении жизненных функций организма происходит

уменьшение количества свободного гликогена и гликогена, связанного с липоидами, за счет увеличения содержания белкового гликогена. Активность α -амилазы и α -глюканфосфорилазы при этом значительно уменьшается. Полученные данные могут быть полезными для терапии терминальных состояний (время восстановления жизненных функций организма, так и по количественной и качественной регистрации обменных процессов в мозгу).

Ереванский медицинский институт,
лаборатория биосинтетических реакций
мозга и ЦНИЛ

Поступило 27.XII 1969 г.

Գ. Ս. ԽԱՉԱՏՐՅԱՆ, Ն. Ռ. ԱԶԳԱԼԳՅԱՆ

ԳԼԻԿՈԳԵՆԻ ԵՎ ՆՐԱ ՏԱՐՔԵՐ ԶԵՎԵՐԻ ՓՈՆԱՆԱԿՈՒԹՅՈՒՆԸ ՈՒՂԵՂՈՒՄ ՏԵՐՄԻՆԱԼ (ՇԱՅՐԱՅԻՆ) ՎԻՃԱԿՆԵՐՈՒՄ

Ա մ փ ո փ ու լ մ

Սպիտակ առնետների վրա, ուռնթանային նարկոզի տակ, առաջ է բերվել փորձնական կլինիկական մասն ու վերակենդանացում և այդ վիճակներում ուսումնասիրվել են գլիկոգենի ու նրա տարբեր ձևերի քանակական տեղաշարժերը, նրանց քայքայմանը մասնակցող ֆերմենտների՝ α -ամիլազայի և α -գլյուկանֆոսֆորիլազայի ակտիվության փոփոխությունները ուղեղում: Ստացված տվյալները բաղդատվել են էլեկտրաֆիզիոլոգիական հետազոտության հետ (էէԳ) տարբեր տերմինալ վիճակներում: Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ կլինիկական մասնական ժամանակ, երբ բացակայում է ուղեղի (կեղևի) էլեկտրական ակտիվությունը, α -ամիլազայի և α -գլյուկանֆոսֆորիլազայի ակտիվությունը բարձրանում է մի քանի անգամ, որի ընթացքում սպիտակուցների հետ կապված գլիկոգենի քանակը զգալիորեն իջնում է, իսկ ազատ գլիկոգենի քանակը բարձրանում: Լիպոիդային գլիկոգենի քանակը մեծ փոփոխությունների չի ենթարկվում: Վերակենդանացումից 20—30 րոպե անց, ֆերմենտների ակտիվությունն ընկնում է և տեղի է ունենում գլիկոգենի տարբեր ձևերի քանակների վերադասավորում: Հետազոտությունը նպատակ է հետապրնդում պարզելու ուղեղում գլյուկոգենի և նրա տարբեր ձևերի փոխանակության մեխանիզմը տարբեր տերմինալ վիճակներում, իսկ ստացված տվյալները կարևոր են տերմինալ վիճակների խորուստյան որոշման, ինչպես նաև թերապևտիկ միջոցների մշակման համար:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Аладжалова Н. А. В кн.: Современные проблемы электрофизиологических исследований нервной системы, изд. «Медицина», 313, 1964.
2. Бунатян Г. Х., Хачатрян Г. С. Вопросы биохимии, Ереван, 101, 1960.
3. Гаевская М. С. Биохимия мозга при умирании и оживлении организма, М., 1963.
4. Неговский В. А. Оживление организма и искусственная гипотермия, М., 1960.
5. Палладин А. В. Биохимия нервной системы. Киев, 7, 1954.
6. Саркисян А. А., Хачатрян Г. С., Хачатрян С. А. Материалы II Закавказской конференции патофизиологов, Ереван, 339, 1962.

7. Хачатрян Г. С. Биохимия головного мозга. Ереван, 1967.
8. Хачатрян Г. С. Материалы V Всесоюзной конференции по нейрохимии, Тбилиси, 1968.
9. Хачатрян Г. С., Азгалдян Н. Р. Тр. Ереванского медицинского ин-та, т. XV, 1969.
10. Cori G. T., Colowick S. P., Cori C. F. Biol. Chem., 123, 375, 1938.
11. Fiske C. H., Subbarow L. J. Biol. Chem., 66, 375, 1925.
12. Khachatryan G. S. Seventh Intern. Congr. of Biochem., Abstr. D-59, Tokyo 1967.
13. Khachatryan G. S. Seventh Intern. Congr. of Clinical Chemistry, Abstr., Geneva, 1969.
14. Morris D. S. Science, 107, 254, 1948.
15. Smith B. W., Roe J. H. J. Biol. Chem., 179, 53, 1949.