ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК АРМЕНИИ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF ARMENIA
ДОКЛАДЫ ԶԵԿՈՒՅՑՆԵՐ REPORTS

Հատոր Том Volume 109 2009 № 1

БИОХИМИЯ

УДК 577.152.199+615.849.19

О. А. Мовсесян, Н. Х. Алчуджян, Н. О. Мовсесян, Г. А. Геворкян

Активность нитрергической системы и поглощение D-глюкозы в костном мозге и субпопуляциях лейкоцитов крови крыс, подвергнутых облучению полупроводниковым лазером и красным световым диодом при клостридиальном сепсисе

(Представлено академиком К.Г.Карагезяном 21/I 2009)

Ключевые слова: *Clostridium perfringens, D-глюкоза, костный мозг, красный световой диод, лейкоциты, полупроводниковый лазер, синтаза оксида азота*

В последние годы в возникновении и развитии сепсиса все большую роль приобретают грамположительные микроорганизмы, в числе которых возбудитель газовой гангрены спорообразующий анаэроб *Clostridium perfringens* [1]. Высокая смертность при септическом шоке несмотря на вазопрессорную терапию и лечение антибиотиками обусловлена индукцией чрезмерного защитного и воспалительного ответа [2]. Согласно современным представлениям выброс цитокинов в ответ на инфекцию иммунокомпетентными клетками (ИКК) вызывает гиперпродукцию универсального биомедиатора оксида азота (NO), с последующим развитием септического шока, когда большое количество микробов, циркулирующих в крови, резко активирует синтез этого газа, вызывающего длительное и сильное расширение мелких кровеносных сосудов и снижение артериального давления, с трудом поддающееся терапевтическому воздействию [3]. Эндогенный синтез NO из аминокислоты L-аргинина осуществляют функционально и фармакологически различающиеся изоформы NO синтазы (NOS): кальций(Ca^{2+})-кальмодулин (CaM)-зависимые "конститутивные" изоформы (cNOS) (нейрональная, nNOS, и эндотелиальная, eNOS) и Ca(II)/CaM-независимая "индуцибельная" (iNOS), эффекторная молекула врожденной иммунной системы, регуляторный компонент антипатогенной и противовоспалительной защиты хозяина [4]. Все

три изоформы обнаружены в ИКК крови и костном мозге и участвуют в реализации их функций, но могут оказывать разное влияние [5]. Так, NO, продуцируемый cNOS, блокирует активирование ядерного транскрипционного фактора (NF-κB) и тормозит высвобождение провоспалительных медиаторов, в то время как iNOS/NO оказывает противоположное действие [6]. Активирование iNOS и ее компартментализация в очагах инфекции и экспрессии провоспалительных цитокинов убедительно продемонстрированы на моделях сепсиса животных и у пациентов с сепсисом и септическим шоком [7]. В то же время защитная роль конститутивных форм NOS, а именно: вазодилатация, антиоксидантное действие, ингибирование адгезии тромбоцитов и лейкоцитов к стенкам сосудов и препятствование агрегации тромбоцитов – указывает на позитивную направленность повышенной продукции NO при инфекции и системном воспалительном ответе [4,5]. Необходимость избирательного подхода при ингибировании ферментных систем, генерирующих NO, подтверждается неудачными попытками терапии септического шока неселективными ингибиторами NOS [8]. Изучение механизмов клостридиального сепсиса на уровне изоферментов NOS, а также поиск новых нефармакологических способов избирательного воздействия на них является одним из подходов к решению проблемы грамположительного сепсиса, который гораздо менее изучен по сравнению с грамотрицательным.

По последним данным система NOS/NO опосредует терапевтические эффекты низкоинтенсивного красного лазерного и светодиодного оптического излучения, при котором повышение концентрации внутриклеточного кальция оказывает воздействие на изоформы NOS [9]. Электромагнитное излучение может влиять на мембранную проницаемость через NO и нитрит/нитраты, стабильные продукты его окисления, которые, являясь хаотропными агентами, изменяют свойства клеточных мембран и оказывают воздействие на связывание и поглощение клетками D-глюкозы, высокие концентрации которой в разной степени ингибируют активность изоформ NOS и подавляют их синтез de novo [10]. В представленной работе на модели клостридиального сепсиса крыс изучено влияние излучения в красной области спектра полупроводникового лазера и светодиода на активность изоформ NOS и поглощение D-глюкозы в костном мозге (КМ) и иммунокомпетентных клетках крови.

Материалы и методы. Эксперименты проводили на молодых беспородных самцах белых крыс массой 100-150 г, содержавшихся в виварии в естественных условиях освещения и при свободном доступе воды и пищи. Модель клостридиального сепсиса получали одноразовой внутрибрюшинной инъекцией 0.25 мл взвеси клеток клинического штамма грамположительной анаэ-

робной спорообразующей бактерии *C. perfringens* (в дозе ЛД 50, 10^6 клеток/мл). Животные были разделены на группы (n = 5/группу): 1) здоровые (контроль); 2) инфицированные *C. perfringens*; 3) инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 600 мДж); 4) инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 900 мДж); 5) инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению красным световым диодом (энергия 900 мДж).

Процедура облучения. Одноразовое облучение проводили полупроводниковым лазером (ППЛ), работающим в непрерывном режиме (длина волны 654 нм) и/или красным светодиодом (КСД). На изолированное и фиксированное животное направлялся пучок с энергией излучения 600 и/или 900 мДж ППЛ и 900 мДж КСД, мощностью 1.5 мВт и длительностью экспозиции 10 мин.

Выделение нейтрофилов и мононуклеаров крови. Кровь собирали в пластиковые пробирки, стабилизировали антикоагулянтом (5% Na_2-EDTA, в соотношении 5:1), смешивали с 6% декстраном, приготовленным на 0.9% NaCl (в состношении 2:1) и инкубировали при 37°C 1 ч. После седиментации эритроцитов отделяли верхний слой, содержащий лейкоциты, из которого получали субпопуляции лейкоцитов центрифугированием в двухступенчатом градиенте плотности фикол-верографина (1.129 и 1.087 г/см^3) при 3000 об/мин 20 мин [11]. Мононуклеары и нейтрофилы получали из верхнего и нижнего интерфазного кольца, соответственно, и перед использованием дважды промывали 20 мМ HEPES буфером pH 7.4.

Выделение костного мозга. КМ выделяли из трубчатых костей (бедренной и большой берцовой), гомогенизировали в 20 мМ HEPES буфере pH 7.4, содержащем 2 мМ дитиотреитола и 3 мМ $MgCL_2 \cdot 6H_2O$. Гомогенат пропускали через фильтр с диаметром пор 70 мкм и полученную взвесь клеток КМ использовали для исследования. Жизнеспособность форменных элементов крови и популяций клеток КМ составляла >95% при определении окраской трипановым синим ("Chemapol", Чехия). Эффективность разделения клеток крови оценивали окрашиванием по Мей-Грюнвальду – Гимзе.

Определение активности изоформ NOS. Активность NOS определяли по продукции активных форм азота (NO и его стабильных интермедиатов, окислов азота (NO_2-, NO_3-, N_2O_4, N_2O_3), нитрозотиолов и нитрозаминов) при долговременной инкубации (24 ч, 37°C) исследуемых образцов в 20 мМ HEPES буфере pH 7.4, содержащем 2 мМ дитиотреитол, 3 мМ $MgCl_2 \cdot 6H_2O$. В инкубационную смесь в зависимости от условий опыта вводили 1.15 мМ EDTA или 1.73 мМ $CaCl_2$. Общая активность NOS определялась инкубированием проб в присутствии 1.73 мМ $CaCl_2$, активность iNOS – инкубированием

проб в присутствии 1.15 мМ EDTA. В параллельных экспериментах пробы инкубировали в присутствии 5.25 мМ L-аргинина и кофакторов NOS: 0.126 мМ NADPH, 20.07 мкМ (6R)-5,6,7,8-тетрагидро-L-биоптерин дигидрохлорида, 6.08 мкМ FAD, 5.53 мкМ FMN. Активность cNOS вычислялась по разности между общей активностью NOS и таковой iNOS. Активность NOS выражали в нмоль (NO_2-) · $мг^{-1}$ белка·24 $ч^{-1}$. Концентрация белка определялась по методу Лоури [12].

Определение активных форм азота. Содержание активных форм азота в супернатантах депротеинизированных проб (осаждение белков осуществляли 0.5 N NaOH и 10% $ZnSO_4$) определяли реакцией диазотирования (с использованием реактива Грисса — Илосвая) спектрофотометрически при длине волны 546 нм [13].

Радиометрическое определение связывания *D*-глюкозы. Для изучения процессов спонтанного захвата D-глюкозы исследуемые образцы (200 мкл) нагружали мкКи ^{14}C[U]-глюкозы (удельная радиоактивность 260 мкКи/ммоль) в 250 мкл 20 мМ HEPES буфера pH 7.4, содержащем 2 мМ дитиотреитол, 3 мМ $MgCl_2$,·$6H_2O$, и инкубировали в течение 30 мин при 37°С. Белки в пробах осаждались трехкратным объёмом 30% ТХУ; свободные лиганды отделяли от связанных пропусканием через фильтры (диаметр пор 0.65 мкм, "Millipore", USA) с двукратной промывкой 96% этанолом. После высушивания фильтры помещали в сцинтилляционные флаконы, растворяли в 0.5 мл диметилсульфоксида и выдерживали в течение 24 ч при комнатной температуре, затем вводили 10 мл сцинтиллятора Брея (2,6-дифенилоксазол и 1,4-ди-(5-фенил-2-оксазолилбензола) растворенные в пропорции 10:1 в сцинтилляционном толуоле). Специфическое связывание лиганда определялось разностью между общим уровнем радиоактивности и после инкубации образцов с ^{14}C-D-глюкозой. Радиоактивность определяли методом жидкой сцинтилляционной спектроскопии на спектрометре SL-4221 (Roche Bioelectronique Kontron, Франция) с эффективностью счёта 70% (по ^{14}C). Поглощение глюкозы пересчитывалось в нмоль ^{14}C-D-глюкозы·$мг^{-1}$ белка.

Статистическая обработка результатов. Для выявления степени зависимости отдельных исследуемых показателей применялся корреляционный анализ (коэффициент линейной корреляции Пирсона, *r*). Достоверность различий средних значений параметров и корреляций по группам оценивали по *t*-критерию Стьюдента. Различия между выборками считали достоверными при $P < 0.05$.

Результаты и обсуждение. В ИКК крови и КМ в условиях *in vitro* в адаптированной нами системе долговременного инкубирования биоматериала (см. Материалы и методы) успешно детектируется синтез NO, который

полностью блокируется при введении в состав реакционной среды 2.5 мМ N^G-монометил-L-аргинина, конкурентного неселективного ингибитора изоформ NOS, что подтверждает функционирование метаболического пути L-аргинин NO (данные не указаны).

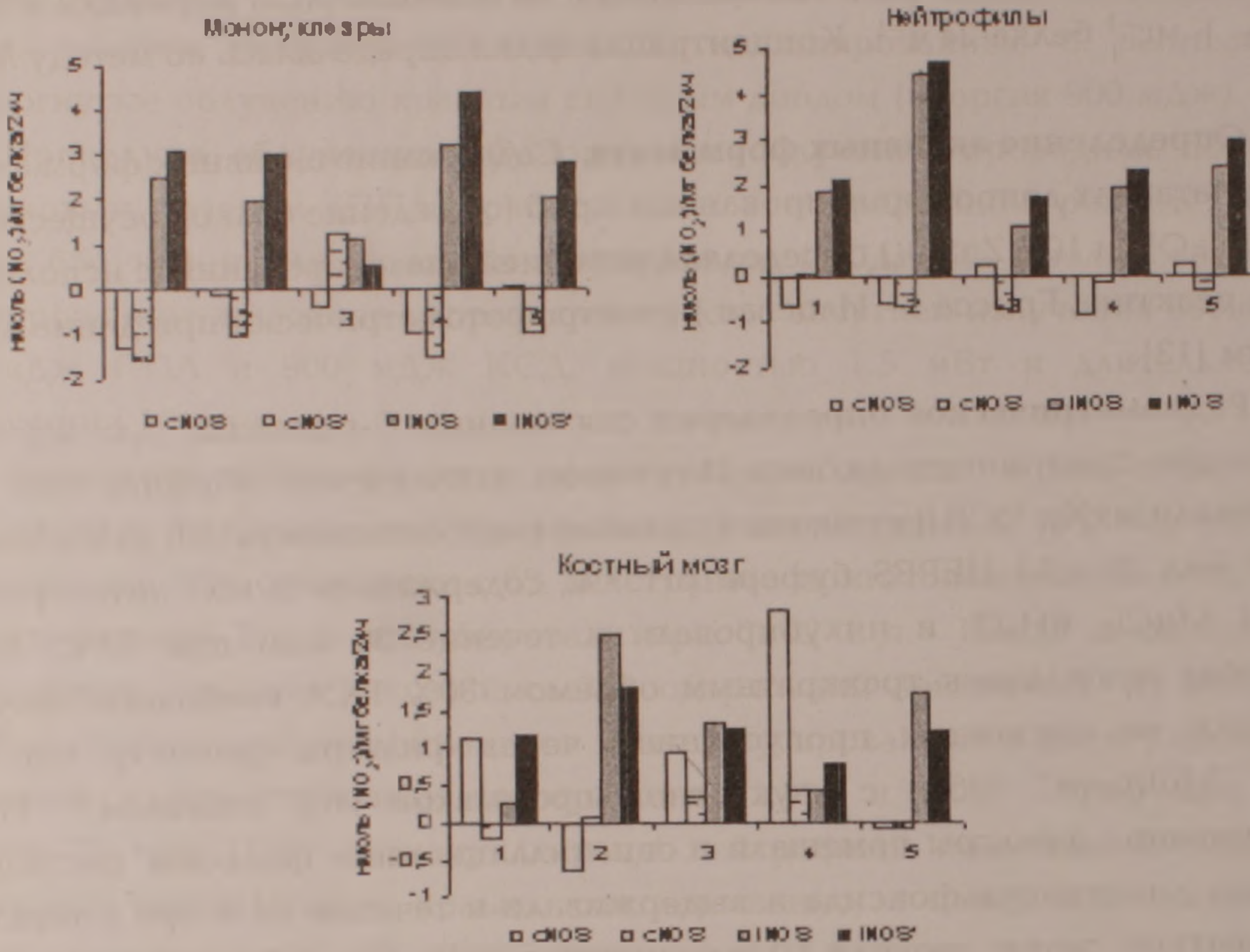

Рис. 1. Активность изоформ NOS в субпопуляциях лейкоцитов крови и костном мозге крыс, инфицированных *C. perfringens* и подвергнутых облучению полупроводниковым лазером и/или красным световым диодом. cNOS'и iNOS' - активность, определяемая в присутствии L-аргинина и кофакторов NOS (см. Материалы и методы). 1 - здоровые крысы (контроль); 2 - крысы, инфицированные *C. perfringens*; 3 - крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 600 мДж); 4 - крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 900 мДж); 5 - крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению красным световым диодом (энергия 900 мДж).

На рис. 1 представлены сдвиги в активности изоформ NOS в мононуклеарах крови и общей фракции при развитии генерализованного воспаления у крыс, инфицированных *C. perfringens* и после облучения ППЛ и/или КСД.

В нейтрофилах и мононуклеарах здоровых крыс обнаруживается только активность iNOS, а в КМ доминирует cNOS, превышая iNOS в 4 раза. Это согласуется с полученными недавно данными о роли конститутивных изоформ

NOS в КМ, где eNOS играет роль в мобилизации прогениторов и стволовых клеток и nNOS действует как паракринный эффектор регуляции гемопоеза [14]. Функциональная роль iNOS/NO в стволовых клетках, возможно, связана с его антиоксидантными свойствами, а также с поддержанием антипролиферативного тона, нацеленного на предотвращение преждевременной гибели при стрессовых воздействиях [15]. В этой связи заслуживают интерес полученные нами данные о том, что при введении в среду долговременного инкубирования L-аргинина и кофакторов NOS (см. Материалы и методы) активность iNOS в КМ повышается до уровня cNOS; по-видимому, такой механизм регулирования может действовать *in vivo*. Это важно, поскольку iNOS в отличие от cNOS способна в течение нескольких дней продуцировать NO и поддерживать его высокий уровень, запуская механизмы иммуносупрессии [16].

Отметим, что включение L-аргинина и кофакторов NOS в реакционную смесь помогает точнее оценить активность NOS, поскольку каждый из них вносит свой вклад в каталитическую активность и стабилизацию конформации фермента, тогда как при исчерпывании их пула или субнасыщающих концентрациях (особенно аргинина и тетрагидробиоптерина) все изоформы NOS могут, окисляя NADPH, продуцировать такие агрессивные продукты, как H_2O_2 , O_2^- и нитроксильный радикал NO^-, оказывая повреждающее действие на ткани [17].

У инфицированных крыс активность iNOS КМ возрастает почти в 10 раз с одновременным полным подавлением cNOS; L-аргинин и кофакторы NOS частично повышают активность последней, но она остается почти в 19 раз ниже контрольных значений, а активность iNOS в их присутствии даже несколько снижается. Изменения во влиянии L-аргинина и кофакторов NOS наблюдаются и в ИКК крови: в норме при включении их в инкубационную среду в нейтрофилах выявляется активность cNOS – у инфицированных животных она не обнаруживается, ослабляется и их активирующее воздействие на iNOS нейтрофилов, которая при инфекции возрастает в 2.4 раза. Интересно, что iNOS мононуклеаров инфицированных крыс снижается в 1.3 раза, но L-аргинин и кофакторы NOS восстанавливают ее нормальный уровень. Полученные данные свидетельствуют о метаболических перестройках при клостридиальном сепсисе, затрагивающих в частности аргининметаболизирующие системы крови и КМ.

Активирование iNOS в ИКК крови и КМ при клостридиальном сепсисе приводит к нарушению сбалансированного синтеза NO в сторону его гиперпродукции, а при одновременном активировании продукции активных форм кислорода сопровождается образованием мощного оксиданта перок-

синитрита ($OONO^-$, ПН), который может инициировать каскад реакций: необратимое ингибирование аконитазы, железо-серных центров I-III комплексов дыхательной цепи, нитрозилирование мембранных тиолов с открытием митохондриальной поры [17]. ПН в отличие от NO активно нитрозилирует липиды, белки, ДНК, оказывая деструктивное воздействие на мембраны и функции клеток [18]. Вдобавок iNOS способна подавлять протекторные механизмы, опосредуемые eNOS в патогенезе сепсиса [19].

При инфекции *C. perfringens* в КМ поглощение D-глюкозы снижается вдвое, в мононуклеарах – в 1.5 раза, а в нейтрофилах возрастает в 1.38 раза (рис. 2).

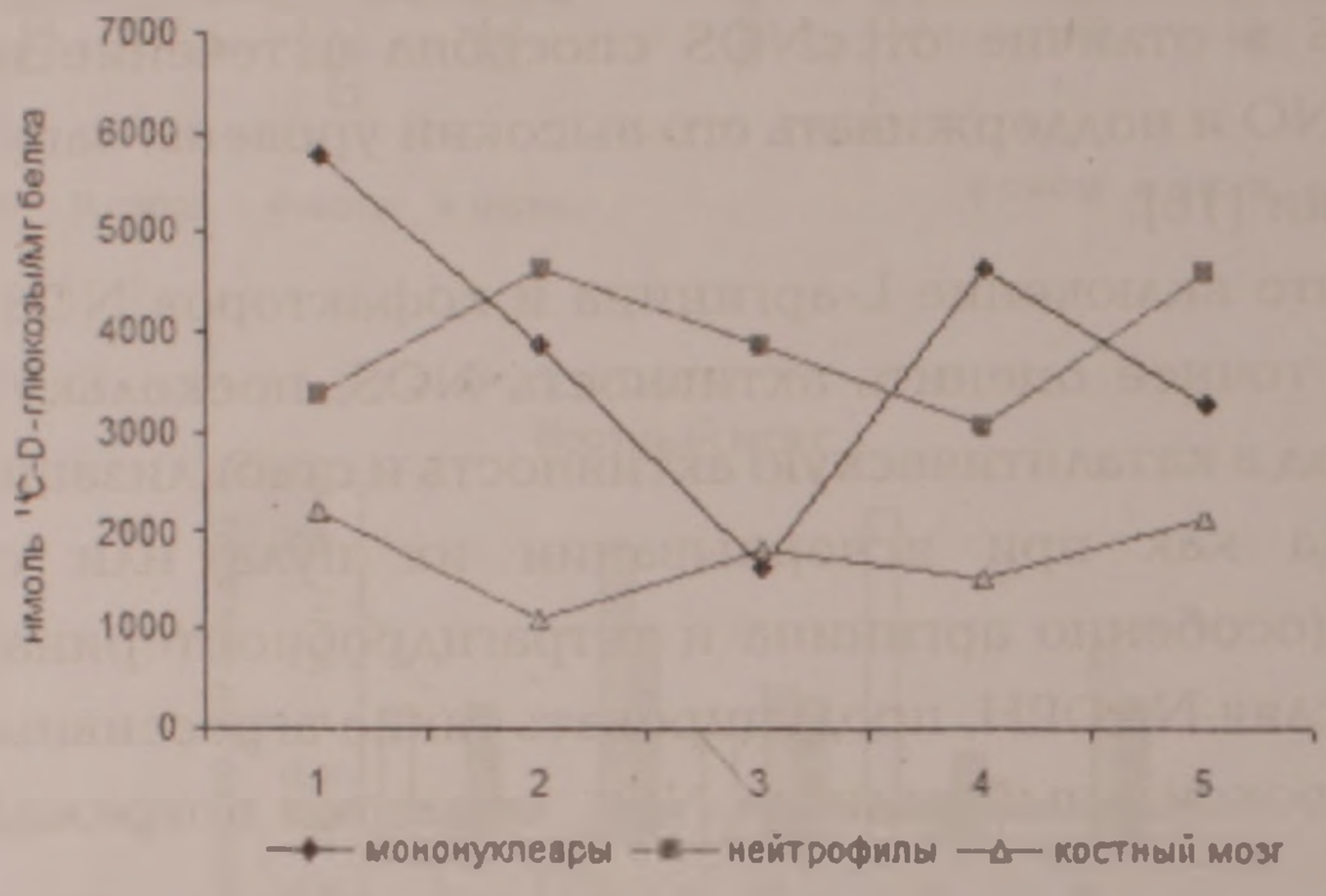

Рис 2. Поглощение D-глюкозы субпопуляциями лейкоцитов крови и клетками костного мозга крыс, инфицированных *C. perfringens* и подвергнутых облучению полупроводниковым лазером и/или красным световым диодом. 1 - здоровые крысы (контроль); 2 - крысы, инфицированные *C. perfringens*; 3 - крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 600 мДж); 4 - крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению полупроводниковым лазером (энергия 900 мДж); 5 - крысы, инфицированные *C. perfringens* и подвергнутые облучению красным световым диодом (энергия 900 мДж).

Сообщалось, что небольшие дозы лазерного облучения вызывают активирование супероксиддисмутазы, снижающей уровень активных форм кислорода, а повышение дозы уже через сутки после облучения вызывает ингибирование супероксиддисмутазы и накопление ПН, который действует как антагонист NO, способствуя спазму сосудов и окислительному повреждению тканей [20]. В наших экспериментах одноразовое воздействие электромагнитного излучения ППЛ и КСД через 24 ч также оказывает нормализующее действие на активность изоформ NOS и захват D-глюкозы ИКК крови и КМ (рис. 1, 2). Причем повышение энергии полупроводникового лазерного облучения с 600 до 900 мДж усиливает эффект ППЛ. В то же

время корригирующее влияние КСД с энергией 900 мДж превосходит ППЛ с энергией 600 мДж и уступает при 900 мДж. При этом в мононуклеарах между поглощением D-глюкозы и активностью iNOS наблюдается положительная корреляция ($r = 0.8131$), а для cNOS – отрицательная ($r = -0.6841$), которую усиливают L-аргинин и кофакторы NOS ($r = -0.9092$), весьма незначительно влияя на корреляцию iNOS. В нейтрофилах картина обратная: между поглощением D-глюкозы и активностью iNOS корреляция отрицательная ($r = -0.4858$), а для cNOS – положительная($r = 0.4931$), и в этом случае L-аргинин и кофакторы NOS меняют значения коэффициента линейной корреляции для cNOS ($r = -0.6604$), практически не влияя на iNOS. Между поглощением D-глюкозы и активностью iNOS костного мозга связь обратная ($r = -0.5447$), что наблюдается и для cNOS ($r = -0.4946$), но только под влиянием L-аргинина и кофакторов NOS. Сложную картину взаимосвязи между изоформами NOS и связыванием D-глюкозы клетками крови и КМ, по-видимому, можно объяснить разнонаправленными сдвигами в активности изоформ NOS и микроокружения, что проявляется *in vitro* в дифференцированном влиянии субстрата и кофакторов NOS. По всей вероятности, электромагнитное излучение оказывает как прямое, так и опосредованное воздействие на эти процессы.

Таким образом, красное излучение полупроводникового лазера и светодиода можно использовать в целях немедикаментозной коррекции иммунного нитрергического ответа и энергообеспечения ИКК крови и КМ при грамположительной инфекции. Получены данные о преимуществе лазерного воздействия перед светодиодным, что, по-видимому, связано с такими специфическими свойствами лазерного излучения, как когерентность, поляризуемость и высокая степень монохроматичности, вероятно, влияющими на метаболические процессы в организме.

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятяна НАН РА

О. А. Мовсесян, Н. Х. Алчуджян, Н. О. Мовсесян, Г. А. Геворкян

Активность нитрергической системы и поглощение D-глюкозы в костном мозге и субпопуляциях лейкоцитов крови крыс, подвергнутых облучению полупроводниковым лазером и красным световым диодом при клостридиальном сепсисе

Clostridium perfringens-инфицированных крыс подвергли облучению полупроводниковым лазером ($\lambda = 654$ nm) и/или красным световым диодом. Выявлено их

модулирующее влияние на кальций-зависимую – кальций-независимую активность NO-генерирующей энзиматической системы и поглощение D-глюкозы в костном мозге и субпопуляциями лейкоцитов крови (мононуклеары и нейтрофилы). Получены данные о преимуществе полупроводникового лазера перед красным светодиодом в отношении корригирующего воздействия на энергетический обмен и нитрергическую систему крови и костного мозга при клостридиальном сепсисе.

Ն. Ա. Մովսեսյան, Ն. Խ. Ալչուջյան, Ն. Հ. Մովսիսյան, Գ. Ա. Գևորգյան

Կիսահաղորդչային լազերի ու կարմիր լուսադիոդի ճառագայթման ազդեցությունը առնետների լեյկոցիտների ենթապեսակների եւ ոսկրածուծի նիտրերգիկ համակարգի ակտիվության ու D-գլյուկոզի կլանման վրա կլոսպրիդիալ սեպսիսի ժամանակ

Կիսահաղորդչային լազերի եւ/կամ կարմիր լուսադիոդի ճառագայթումը ընդրոդական ազդեցություն է ցուցաբերում D-գլյուկոզի կլանման եւ ազոտի օքսիդի սինթեզի իզոձեւերի ակտիվության վրա[1] *Clostridium perfringens*-վարակված առնեպների արյան լեյկոցիտների ենթապեսակների եւ ոսկրածուծի մեջ: Պարզվել է արյան ու ոսկրածուծի նիտրերգիկ համակարգի եւ էներգետիկ նյութափոխանակության կարգավորման մեջ կիսահաղորդչային լազերի առավելությունը կարմիր լուսադիոդի հանդեպ կլոսպրիդիալ սեպսիսի ժամանակ:

H. A. Movsesyan, N. Kh. Alchujyan, N. H. Movsisyan, G. A. Kevorkian

Nitrergic System Activity and D-Glucose Uptake of Leucocyte Subpopulations and Bone Marrow of Rats Treated with Half-Conducted Laser and Red Light Diode in Clostridial Sepsis

Rats were infected with Clostridium perfringens and treated with half-conducted laser (λ = 654 nm) and/or red light diode. Irradiation caused changes in the activity of calcium-dependent and calcium-independent NO-generating enzymatic system and D-glucose uptake of leucocyte subpopulations (mononuclears and neutrophils). We have suggested the preference of half-conducted laser irradiation upon that of red-light diode in the modulation of nitrergic system and energy metabolism during clostridial sepsis.

Литература

1. *Акимкин В.Г., Карпун Н.А., Климова Г.М., Клюжев В.М., Тихонов Ю.Г.* - Эпидемиол. инфекц. болезни. 2008. N2. С. 11-16.

2. *Levy M.M., Fink M.P., Marshall J.C.* - Crit. Care Med. 2003. V. 31. N 4. P. 1250-1256.

3. *Thiemerman C.* In: Nitric oxide, Gryglewski R.J., Minuz P., Ed.; IOS Press Amsterdam. 2001. V. 317. P. 117-125.

4. *Alderton W.K., Cooper C.E., Knowles R.G.* - Biochem. J. 2001. V 357. N 3. P. 593-615.

5. *Stefano G.B., Goumon Y., Bilfinger T.M.* - Progress Neurobiol. 2000. V. 60. P. 513-530.

6. *Annane D., Sanquer S., Sebille V., Faye A., Djuranovic D., Raphael J.C., Gajdos P., Bellissant E.* - Lancet. 2000. V. 355. P. 1143-1148.

7. *López A., Lorente J.A., Steingrub J., Bakker J., McLuckie A., Willatts S., Brockway M., Anzueto A., Holzapfel L., Breen D.* - Crit Care Med. 2004. V. 32. P. 21-30.

8. *Клебанов Г.И., Шураева Н.Ю., Чичук Т.В., Сидорина Н.Г.* - Лазерная медицина. 2005. Т. 9, N 1. С. 23-31?.

9. *Brovkovych V., Dobrucki L.W., Brovkovych S., Dobrucki I., Do Nascimento C.A., Malinski T. J.* - Physiol. Pharmacol. 1999. V. 50. N 4. P. 575-581.

10. *Фрик Г., Прейснер З.С., Иенсен Г.Л., Бурмейстер Ю.* В кн.: Иммунологические методы (под ред. Х.Фримеля). М. Мир. 1979.

11. *Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J.* - J. Biol. Chem. 1951. V. 193. P. 265-275.

12. *Miranda K.M., Espey M.G., Wink D.A.* - Nitric Oxide. 2001. V. 5. P. 62-71.

13. *Krasnov P., Michurina T., Packer M.A., Stasiv Y., Nakaya N., Moore K.A., Drazan K.E., Enikolopov G.* - Mol. Med., Published online 2007 December 8. doi: 10.2119/2007-00011.

14. *Cheng T., Rodrigues N., Shen H.* - Science. 2000. V. 287. P. 1804-1808.

15. *Elgert K.D., Alleva D.G., Mullins D.W.* - J. Leukocyte Biol. 1998. V. 64. P. 275-279.

16. *Gorren A.C.F., Mayer B.* - Curr. Drug Metab. 2002. V. 3. P. 135-157.

17. *Guilivi C.* - Novaris Found Symp. 2007. V. 287. P. 92-100.

18. *Davis K.L., Martin E., Turko I.V., Murad F.* - Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 2001. V. 41. P. 203-236.

19. *Bredt D.S.* - J. Cell Sci. 2003. V. 116. P. 9-15.

20. *Клебанов Г.И., Полтанов Е.А., Чичук Т.В., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А.* - Биохимия. 2005. Т. 70. N 12. С. 1623-1630.