

УДК 612.173.1.015.1:577.152.273

**УЧАСТИЕ ФОСФОЛИПИДОВ В РЕГУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ
КРЕАТИНКИНАЗЫ И ЕЕ ИЗОФЕРМЕНТОВ В МИОКАРДИАЛЬНОЙ
ТКАНИ В НОРМЕ И ПАТОЛОГИИ**

К.Г.Карагезян, Г.О.Меликсетян, Ж.И.Акопян, Л.М.Овсепян,
Л.Л.Данилова, З.С.Мкртчян, В.В.Ордян

*/Институт молекулярной биологии НАН РА/
375014 Ереван, ул. Асратяна, 7*

Креатинкиназная система – важнейшее звено в метаболизме миокардиальной ткани, ответственная за обеспечение сократительной функции сердца.

Многочисленными клинико-экспериментальными исследованиями показано значение эффекта ингибирования активности креатинкиназы в возникновении быстро развивающихся структурно-функциональных и метаболических расстройств, обуславливающих общий патологический статус болезненного состояния организма.

Основное назначение системы креатинфосфат – креатинкиназа (фосфокреатинового челнока) в миокарде состоит в реализации эффективной трансляции энергии АТФ/АДФ и (или) ΔG (АТФ) из митохондрий в миоплазму, к миофибриллам и мембранным образованиям различных уровней. Благодаря этому и обеспечивается эффект сократительной функции миофибрилл, максимальное резервирование адениловых нуклеотидов и сопряженного с ними расходования энергоресурсов. Существование функциональной взаимосвязи между процессами трансформации энергии, с одной стороны, и ее использования, с другой, – является одним из главных условий эффективного энергообеспечения функциональной активности клеток, в частности кардиомиоцитов. Эти процессы осуществляются интегративным взаимодействием и функциональной взаимообусловленностью мембраносвязанных ферментных систем, участвующих также в трансмембранной передаче энергии митохондриями к очагам ее потребления в цитоплазме [19]. К числу основных ферментов, участвующих в энергообеспечении сократительной функции миокарда, относится адениннуклеотидтранслоказа, содержащая прочно связанные молекулы кардиолипина, осуществляющие структурное взаимодействие фермента с митохондриальной креатинкиназой, а также митохондриальные и цитоплазматические изоферменты креатинкиназы и аденилатциклазы [23]. Эффективность функционального взаимодействия при этом находится в известной зависимости от частоты соударений в кардиолипиновых доменах митохондриальной мембраны. Структурные изменения, сопряженные, например, с состоянием ишемии миокарда, сопровождаются соответствующими функциональными изменениями в этой цепи трансформации и переноса энергии [20,21]. Расстройства в энергообеспечении сократительного

процесса миофибрилл определяют возникновение и развитие многих форм сердечной недостаточности [22], обусловленных, в частности, подавлением механической активности сердца, истинная природа которой по сей день остается недостаточно изученной.

Общий высокий уровень креатинкиназной активности в миокарде обеспечивается его четырьмя изоферментами (ММ, ВВ, МВ и ККmit), представленными в митохондриях и цитоплазме [19,24]. Благодаря этим специфически действующим изоферментам креатинкиназы осуществляется процесс обратимого катализа реакции переноса фосфорильной группы с АТФ на креатин (прямая реакция) и с креатинфосфата на АДФ (обратная реакция).

Распределение мРНК креатинкиназы в тканях крысы подтверждает наличие изофермента ВВ в сердечной мышце. Вместе с тем установлено [37,69] максимальное присутствие мРНК фермента типа В в миокардиальной, мозговой тканях и стенке кишечника, а мРНК типа М — в сердце и периферических мышцах. Несмотря на имеющиеся существенные различия в электрофоретической подвижности указанных изоформ креатинкиназы, их иммунохимических свойствах, аминокислотном составе, кинетическая идентичность оказывается очевидной и подтверждается установленным превосходством примерно на порядок к MgАДФ и креатинфосфату, нежели к MgАТФ и креатину, а также приблизительно 4-кратным превалированием V_{max} обратной реакции над V_{max} прямой [19].

Известно, что митохондриальная креатинкиназа связана с внешней поверхностью внутренней мембраны митохондрий с помощью кардиолипина, наделенного кислотными свойствами, силами электростатического взаимодействия [23,55], и активность ее подвержена систематическому регулированию за счет обратимого связывания с мембраной. Примечательна частичная фиксация фермента, характерная для физиологических состояний, в то время как остальная часть креатинкиназы без какой-либо потери активности оказывается сконцентрированной в межмембранном пространстве [55], о чем, в частности, свидетельствует отсутствие какой-либо существенной информации относительно проникновения белка в гидрофобную область мембраны [35].

Что касается характерных для миокарда малоизученных изоферментов креатинкиназы — ММ и ВВ форм, то, согласно имеющимся сведениям литературы [41], считается установленной общность в конформационных особенностях и структурно-функциональных параметрах их активных центров. Димеры указанных изоферментов, изолированных из мозга и мышц кролика, представляют собой асимметрично расположенные субъединицы удлиненного эллипса и теоретически могут быть характерными и для изоферментов креатинкиназы миокарда человека, поскольку до настоящего времени нет конкретных указаний относительно существования межвидовых различий между гомологичными димерами [29]. На сегодня мы располагаем сведениями о наличии тесной взаимосвязи цитоплазматических форм креатинкиназы сердечной и скелетных мышц с ферментными системами гликолитической энергопродукции [13], которые осуществляются посредством промежуточных продуктов реакции. На уровне аэробных клеток миокарда избыток креатинфосфата, синтезированного в митохондриях, смещает реакцию в сторону лимитирования количества АДФ, а в ишемизированных клетках, претерпевающих гипо- и аноксическое состояние, падение концентрации креатинфосфата склоняет реакцию в направлении синтеза АДФ.

По данным иммуноэлектронной микроскопии, наибольшая концентрация креатинкиназы — М обнаруживается в полосе А, связанной с толстыми волокнами, и наименьшая — в линии М [64], в связи с чем регенерация АТФ из АДФ с участием АТФазы в основном связывается с распределением креатинкиназы в толстых волокнах; примечательно ее присутствие также во внешней и внутренней мембранах митохондрий.

Сравнительный анализ распределения тяжелых цепей миозина и креатинкиназы в сердце развивающегося куриного эмбриона позволяет заключить о сосредоточении М-положительных клеток в проводящей ткани, а В-положительных — в зоне, ответственной за генерацию сердечного ритма [51]. Эти сведения имеют в основном описательный характер и ограничиваются ссылками на исследования, касающиеся цитоплазматической креатинкиназы, в то время как наблюдения, относящиеся к митохондриальной фракции фермента, по степени своей значимости имеют не только прикладное значение, но представляют также серьезный академический интерес. Согласно имеющимся указаниям [60], идентификация креатинкиназы сердца быка и крысы как мажорного S-тиолированного белка обусловлена модифицирующей ролью диамида, проявляющейся в отношении креатинкиназы в культуре кардиомиоцитов крысы с участием оксидрадикалов, формирующихся в процессе окислительного стресса или метаболических превращений различных лекарственных препаратов. Модификация фермента тиол-дисульфидом и S-тиолированием, инициированным ксантиноксидазой, происходит обоими путями, и тиол-дисульфидный обмен выступает в роли одного из основных механизмов образования модифицированных белков в условиях *in vivo*. По природе своей подобные белковые соединения могут быть отнесены к категории клеточных антиоксидантов. Следовательно, участие креатинкиназы как катализатора процесса глутатионзависимого восстановления реактивных окислителей [60] можно считать очевидным. Вышеизложенное свидетельствует о существовании функциональной взаимосвязи между креатинкиназой М-типа и мембраносвязанными фосфолипидами, оказывающими регуляторное влияние на каталитические свойства фермента. В связи с этим, согласно данным литературы, наиболее приемлемой формой участия в качестве коферментов или специфических кофакторов является их непосредственное отношение к процессам аллостерического регулирования, в которых им отводится роль специфических эффекторов [5,16,17]. Благодаря наличию в структурной организации молекулы фосфолипида полярных и неполярных группировок в виде ионизированных остатков фосфорной кислоты, азотистых оснований, насыщенных и полиеновых жирных кислот, обеспечивается наличие, по крайней мере, четырех активных центров, формирующихся между эфирными связями жирных кислот и глицерином, эфирными связями фосфорной кислоты с азотистыми основаниями и глицерином, между ионизированными группами фосфорной кислоты и ионизированным состоянием азота в составе азотистых оснований. Благодаря отмеченным и другим структурным особенностям фосфолипидов происходит систематическое демонстративное проявление их специфических физико-химических и метаболических свойств, что имеет решающее значение в структурной организации живой материи и установлении особого межмолекулярного статуса, ответственного за образование фермент-фосфолипидных комплексов с участием электростатических сил взаимодействия. Благодаря гидрофобному микроокружению, создаваемому при определенном качественном наборе и количественном содержании различных категорий кислых и нейтральных

фосфолипидов, обеспечивается и необходимый уровень текучести биологической мембраны, без которой немислимо физиологическое функционирование той или иной ферментной системы, в том числе и изоферментов креатинкиназы. Особый интерес представляет значение кардиолипина, локализованного, как известно, во внутренней мембране митохондрий любых клеточных разновидностей и выполняющего в ней не только роль структурного элемента, но и важного фактора, контролирующего активность ферментных систем, катализирующих электронтранспортирующую функцию и энергогенерирующие процессы этих важнейших образований клетки [5].

Таким образом, изучение биологической роли фосфолипидов имеет решающее значение в плане выявления и изучения специфики их участия в структурно-функциональной организации поверхностей раздела клетки и их субцеллюлярных образований, а также метаболической активности клетки. Поиски в этом направлении позволили по-иному интерпретировать ряд важнейших свойств фосфолипидов, обуславливающих их участие в формировании молекулярных механизмов липид-белковых взаимоотношений, сводящихся, в конечном счете, к созданию и стабилизации активно протекающих конформационных изменений белковых молекул. Это в значительной степени касается феномена агрегации отдельных компонентов в ферментных комплексах и дозирования степени гидрофобности среды, столь необходимой в реализации адекватного ритма течения локализованных в мембранах химических реакций [5,16], формировании в них лиганд-рецепторных взаимоотношений, механизмов лимитирования энергетического баланса, упорядоченного течения процессов биосинтеза ДНК и сложной цепи переплетения многочисленных метаболических превращений [34]. Значение последних тем более значимо, если учесть, что в основе всех жизненно важных процессов, связанных, в частности, с явлением старения, феноменом деления клетки, адаптивными процессами, малигнизацией клеток, лежат процессы структурно-функциональной и метаболической перестройки клеточных мембран различных уровней дифференциации [2]. Филогенетически запрограммированный набор фосфолипидов различных категорий, представленный в единой биологической системе в виде мембраносвязанных компонентов этой сложнейшей системы, является главным условием ее физиологического функционирования. Малейшие отклонения в этом интегрально сбалансированном комплексе явлений чреваты развитием и генерализацией патологических явлений, инициируемых на начальных этапах этих срывов угнетением активности всей ферментной активности и, в том числе, таких важнейших систем как цитохромная, фосфолипидзависимые механизмы, ответственные за сохранение и поддержание физиологического статуса клетки в целом [11,12].

В настоящее время накоплен обширный экспериментальный материал, отражающий характер структурно-функциональных нарушений в митохондриях при различных формах проявления ишемии миокарда [22]. Вместе с тем имеются также указания относительно важнейшей роли креатинкиназной системы в сохранении цитозольного пула адениннуклеотидов и внутриклеточного транспорта энергии и обеспечении функциональной полноценности миофибрилл [22,50]. В этой связи особого внимания заслуживают изменения, констатируемые в деятельности межмембранных взаимоотношений ферментных систем, выступающих в роли связующих элементов между энергоемкими процессами, совершающимися на уровне цитоплазмы и митохондриальных образований. Они в основном обусловлены подавлением активностей аденилаткиназы и креатинки-

назы, происходящим за счет как миграции фермента во внемитохондриальное пространство, так и образования неактивных комплексов, интенсифицирующих процесс ишемического повреждения миокардиальной ткани. Отмечающиеся при этом срывы в энергогенерирующей и энерготранспортирующей функциях митохондрий находят свое частичное объяснение в многочисленных изменениях на пути трансформации энергии в цитоплазму в виде креатинфосфата [20–22]. В этом, в частности, и скрываются нарушения, установленные в последнее время в кардиопротекторных свойствах креатинфосфата, активно препятствующего в норме накоплению “агрессивных” лизопроизводных фосфолипидов-глицеридов, главным образом лизофосфатидилхолинов [7]. Это наиболее отчетливо проявляется в условиях ишемизированного миокарда, когда креатинфосфат выступает в роли активного ингибитора сарколеммной 5-нуклеотидазы и противодействующего агента в процессе накопления продуктов перекисления липидов [9,10], обладающих мощным мембранотоксическим, мембранолитическим действием. Таким образом, защитное действие креатинфосфата обусловлено его непосредственным действием на сарколемму кардиомиоцитов. Оно проявляется в виде постоянного поддержания упорядоченности и упакованности фосфолипидов в структуре сарколеммной мембраны, что является важным залогом ее устойчивости к ишемическому повреждению. Поэтому одним из главных дестабилизирующих моментов в условиях ишемии миокарда в настоящее время выступает феномен ускорения процесса распада креатинфосфата [7,9]. Совокупность приведенных факторов свидетельствует о существовании функциональной взаимосвязи и взаимообусловленности между энергодефицитным состоянием, признаками ишемического повреждения миокарда, показателями расстройств целостности кардиомиоцитарных мембран и активностью креатинкиназы. В связи с отмеченным важное значение приобретают исследования факторов, влияющих на каталитические свойства ММ изоформы креатинкиназы миокарда человека. К ним, в первую очередь, причисляют фосфолипиды и жирные кислоты как эстерифицированные, так и свободно существующие преимущественно из полиенового ряда. Механизмы специфического действия последних на функциональную активность миокардиальной ткани, вернее ее сократительную функцию, по современным представлениям реализуются посредством цитоплазматической формы креатинфосфата, представленной в виде ММ изофермента.

Полученные нами результаты клинико-экспериментальных исследований являются свидетельством отчетливо проявляющейся регуляторной роли фосфолипидов в отношении активности всех изоферментов креатинкиназы ишемизированной миокардиальной ткани человека. Так, например, является неоспоримым стимулирующее влияние фосфатидилхолинов, фосфатидилсеринов, кардиолипинов и фосфатидных кислот на активность изученного фермента в норме и патологии. В присутствии указанных фосфолипидов имеет место повышение активности одной лишь ММ формы креатинкиназы соответственно на 60, 80, 100 и 170%. В то же время эффекты лизопроизводных фосфолипидов в основном лизофосфатидилхолинов и монофосфоинозитидов характеризуются развитием противоположных сдвигов в активности миокардиальной ткани. Они обусловлены ингибирующим влиянием указанных липидов на активность креатинкиназы в пределах 90 и 100% соответственно [8]. Данные, свидетельствующие о существующей специфичности в характере действия различных представителей индивидуальных фосфолипидов на активность и каталитические свойства, описаны и в отношении других ферментов [1,16,30,36]. Однако остается мало

изученным вопрос о молекулярных механизмах наблюдаемых эффектов. Тем не менее, решающим в механизме активирующего действия фосфолипидов на ферментную активность является обеспечиваемый ими эффект солубилизации, сопровождающийся переходом фермента в растворимую фазу, способствующую его взаимодействию с субстратом [4] на уровне вторичной, третичной структуры отдельных субъединиц, четвертичной структуры всей ферментной молекулы, а также на стадии трансформации изоферментов из одной формы в другую [68].

Механизм активирования ММ формы креатинфосфата миокарда человека с помощью фосфолипидов согласуется с вышеприведенными положениями и сводится к формированию сугубо специфических условий, способствующих процессу диссоциации димерного фермента на кинетически более активные мономерные формы [62]. Это, по-видимому, не исключает также возможности существования и аллостерического эффекта, продемонстрированного на примере мембраносвязанного фермента, достигаемого с помощью фосфолипидов [6]. Механизм ингибирующего действия последних заключается не в образовании E-S комплекса, а, наоборот, в стимуляции процессов его диссоциации [59] с соответствующими отклонениями в K_m и V_{max} реакции, нашедшими свое подтверждение в результатах наших специальных исследований, посвященных изучению особенностей тормозящих эффектов указанных индивидуальных фосфолипидов на начальные скорости креатинкиназной реакции. Использование варьирующих концентраций субстратов позволило выявить бесконкурентный тип ингибирования по отношению к АДФ, а также проявление неконкурентного или смешанного типа торможения по отношению к КФ [14]. Это свидетельствовало либо о возможном присоединении фосфолипида к E-S комплексу с образованием E-S-I, либо указывало на активность липида в стадии превращения субстрата, не влияя на эффективность его связывания. Эти сведения могут быть интерпретированы как свидетельство о существовании на поверхности ММ изофермента креатинкиназы миокарда человека участков, расположенных, по-видимому, вне активного центра и ответственных за его связывание с компонентами мембран. При этом важно отметить, что характер влияния фосфолипидов на ферментативную активность обусловлен не только классификационным типом этих соединений, но и главным образом спецификой качественного состава жирных кислот, этерифицированных в структуре того или иного фосфолипида.

Аналогичный подход правомерен и в отношении фосфатидилхолина, являющегося эффектором пируватоксидазы, реактивирующее действие которого на фермент в значительной степени определяется жирнокислотным компонентом молекулы этого липида [1]. Вместе с тем не следует абсолютизировать значение жирнокислотного состава фосфолипидов в достижении регуляторного эффекта этих соединений на деятельность ферментов вообще и активность ММ изофермента креатинкиназы, в частности.

Проявляемое фосфолипидами регулирующее воздействие на ферментативную активность может стать предметом направленного использования в практике лечебных мероприятий при различных сердечно-сосудистых заболеваниях, главным образом при остром инфаркте миокарда, при котором, согласно имеющимся данным [70], определенное прогностическое значение придается степени связывания креатинкиназы и ее изоферментов митохондриальной фракцией кардиомиоцитов. В осуществлении этого эффекта первостепенное место отводится не только осуществлению необходимого фосфолипидного окружения

фермента, как неоднократно отмечалось, но и уровню комплексообразования мембраносвязанной креатинкиназы с соединениями антиоксидантного действия. Этот феномен наиболее демонстративно проявляется при формировании функциональной активности МВ разновидности креатинкиназы [66], особенно в случаях оперативного вмешательства на инфарцированном миокарде [40]. Примечательно, что аналогичный эффект описан и на примере суммарной креатинкиназы [47,56], что, по всей вероятности, в значительной степени предопределено наиболее заметными сдвигами аналогичного профиля со стороны изоформы МВ, отмечаемой в виде изоэнзима креатинкиназы типа МВ-2, которому, по современным представлениям, отводится важное диагностико-прогностическое значение при возникновении острого инфаркта миокарда [45,53] и ангинальных проявлениях [43]. Изучение особенностей изменения функциональной активности указанной изоферментной системы креатинкиназы в сочетании с параллельно развивающимися отклонениями в степени активности глутаматоксалоацетаттрансаминазы и лактатдегидрогеназы на различных этапах постоперационного периода [46] приобретает особое значение в дифференциальной диагностике острого инфаркта передней стенки миокарда [26,31], которые не обсуждались в аспекте физиологии и патофизиологии миокарда в норме и при болезненных состояниях [27,32,45]. В свете указанного повышение тотальной активности креатинкиназы и ее изоферментного комплекса при остром инфаркте миокарда, преимущественно ее МВ формы, рассматривается как достоверный показатель доминирования симптомов стресса и кардиогенного шока [37,49], эффективно дифференцируемых при изученных экстремальных состояниях.

Использование независимого плазматического фактора — тропонина-Т в сочетании с креатинкиназой и низкомолекулярным гепарином позволяет в высокой степени оптимизировать диагностико-прогностические подходы при остром инфаркте миокарда [42,54,63,65,67]. С отмеченной точки зрения, исключительно эффективным оказывается и определение циркулирующего в сыворотке крови гепатоцитарного фактора роста [58], комбинированное изучение которого с тропонином-Т подчас может оказаться более эффективным, чем определение колебаний функциональной активности креатинкиназы [39].

Следует особо отметить необходимость использования всего арсенала эффективных диагностических подходов, которые могут исключить наличие острого инфаркта миокарда на фоне повышения активности креатинкиназы, в частности ее МВ изофермента, имеющего место, например, при физических повреждениях грудной клетки или при выраженной ишемии миокардиальной ткани без развития в ней очагов некротических поражений [25,61]. При исключении последних, учитывая детерминантную роль инсулина [57], а также стабилизирующую роль β -блокаторов в отношении креатинкиназы и лактатдегидрогеназы в эксперименте [52], становится очевидной роль активности как тотальной креатинкиназы, так и ее МВ изофермента в адекватном определении размеров некротического поражения миокарда в различные промежутки времени после его возникновения.

Подобные сведения становятся более информативными при параллельном проведении этих наблюдений с регистрацией активности карбоангидразы III, количественных сдвигов миоглобина, что в комплексе представляет значимый интерес в ранней диагностике острого инфаркта миокарда [33].

Вышеизложенные положения должны способствовать освещению современных представлений о роли креатинфосфат-креатинкиназной системы в достижении оптимизации ранней диагностики острого инфаркта миокарда и понимании современных подходов к интерпретации молекулярных механизмов функционирования креатинкиназы при инфарктах сердца.

Поступила 10.11.99

ЛИТЕРАТУРА

1. Биоантиокислители в регуляции метаболизма в норме и патологии. М., 1982.
2. Божсков А.И., Длубовская В.Л. Биохимия, 1992, 57, 1, с. 8.
3. Булгаков В.Г., Моргунов А.А., Биленко М.Б. Бюлл.эксп.биол. и медиц., 1987, 12, с. 643.
4. Владимиров Ю.А., Поглазов А.Ф. Биологические мембраны. М., 1973.
5. Грибанов Г.А. Успехи совр.биологии, 1975. 80, 3(6), с. 382.
6. Грибанов Г.А. Вопр.мед.химии, 1991, 37, 4, с. 2.
7. Джалиашвили И.В., Конорев Е.А., Медведев Н.Б. и др. Биохимия, 1992, 57, 2, с. 300.
8. Карагезян К.Г., Мкртчян З.С., Меликсетян Г.О. и др. ДАН АрмССР, 1988, LXXXVII, 2, с. 90.
9. Конорев Е.А., Медведев Н.Б., Джалиашвили И.В. и др. Биохимия, 1991, 56, 9, с. 1701.
10. Корчажкина О.В., Лакомкин В.Л., Векслер В.И. и др. Биохимия, 1992, 57, 2, с. 201.
11. Крепс Е.М. Липиды клеточных мембран. Л., 1981.
12. Крепс Е.М. XXII Баховские чтения. Л., 1967, с. 74.
13. Лызлова С.Н., Стефанов В.Е. Ж.эвол.биохимии и физиол., 1989, 25, 2, с. 182.
14. Меликсетян Г.О. Зарафян И.М., Мкртчян З.С. и др. Вопр.мед.химии, 1991, 5, с. 68.
15. Меликсетян Г.О. Автореф.канд.дисс. Ереван, 1992.
16. Микельсаар Х., Северина И.И., Скулачев В.П. Успехи совр.биол., 1974, 78, 3(6), с. 348.
17. Миоинозит и фосфоинозитиды. М., 1987.
18. Норман Т.Н., Лексина Н.К. Биохимия. Минск, 1989, с. 73.
19. Сакс В.А. Успехи биол.химии, 1983, 24, с. 46.
20. Скулачев В.П. Аккумуляция энергии в клетке. М., 1969.
21. Скулачев В.П. Трансформация энергии в биомембранах. М., 1972.
22. Толейкис А.И., Кальвенас А.А., Джемс П.П. и др. Биохимия, 1988, 53, 4, с. 649.
23. Хуча С.З., Кузнецов А.В., Черноусов Г.В. и др. Биол.мембраны, 1987, 4, 4, с. 415.
24. Четверикова Е.П. Успехи биол.химии, 1977, 14, с. 43.
25. Abramov Y., Abramov D., Abrahamov A. Acta Obstet. Gynecol. Scand., 1996, 75(3), p.255.
26. Agetsuma H., Hirai M. et al. Heart, 1996, 75(3), p. 229.
27. Anderson J.L., Karagounis L.A. et al. Am.J. Cardiol., 1996, 78(1), p. 1.
28. Andreotti F., Pasceri V. et al. N.Engl.J.Med., 1996, 334(1), p. 7.
29. Bais Rence, Edwards J.B. CRC, Crit.reviews in clinical laboratory sciences, 1986, 16, p. 291.
30. Bell M.V., Sargent J.R. Comp.Biochem. Physiol., 1985, 86, 2, p. 227.
31. Birnbaum Y., Kloner R.A. et al. Am.J.Cardiol., 1996, 78(4), p. 396.
32. Bokesch R.M., Long J., Grimaldi R.J. Clin.Anesth., 1996, 8(3), p. 175.
33. Brogan G.X. Jr., Vuori J. et al. Ann.Emerg.Med., 27(1), p. 22.
34. Chaffoy D. Moll. Cell. Biochem., 1989, 88, 1-2, p. 65.
35. Cheneval D., Carafolli E. et al. Eur.J.Biochem., 1989, 186, 1-2, p. 415.
36. Cunningham C. C., Lowel P.H. J.Biol.Chem., 1971, 246, 6, p. 1575.
37. Daae L.N., Hasle T.E., von der Lippe.A. Tidsskr.Nor.Laegeforen., 1996, 116(13), p. 1573.
38. Freyburger G., Gin H. et al. Metabolism., 1989, 38, 7, p. 677.
39. Gokhan Cin.V., Gok H., Kaptanoglu B. Int.J.Cardiol., 1996, 53(3), p. 237.
40. Greaves S.C., Rutherford J.D. et al. Am.Heart. J., 1996, 132(3), p. 572.
41. Grossman S.H. Biochemistry, 1989, 28, 11, p. 4894.
42. Hasdai D., Varda Bloom N. et al. Angiology, 1996, 47(5), p. 491.
43. Hedges J.R., Gibler W.B. et al. Acad.Emerg.Med., 1996, 3(1), p. 7.
44. Honjo J., Ozavwa K. Biochem. et Biophys. Acta, 1968, 150, 3, p. 521.
45. His W.L., Lai J.S. Am.J.Phys.Med.Rehabil., 1996, 75(4), p. 263.

46. *Ishiyama T., Okumura Y. et al. Masui, 1996, 45(4), p. 449.*
47. *Johnston J.D., Lloyd M. et al. J.R.Soc.Med., 1996, 89(8), p. 462.*
48. *Keffer J.H. Am.J.Clin.Pathol., 1996, 105(3), p. 305.*
49. *Kovacs K.A., Burggraf G.W. et al. Can.J.Cardiol., 1996, 12(7), p. 689.*
50. *Lakomkin V.L., Kuprianov V.V. et al. J.Mol.and Cell. Cardiol., 1989, 21, 2, p. 27.*
51. *Lamers W.H., Geerts W.J.C., Moorman A.F.M. et al. Anat. and Embryol., 1989, 179, 4, p. 387.*
52. *Laser A., Neubauer S. et al. J.Am.Coll.Cardiol., 1996, 27(2), p. 487.*
53. *Laurino J.P., Bender E.W. et al. Clin.Chem., 1996, 42(9), p. 1454.*
54. *Lee T.H., Thomas E.J. et al. Am.J.Cardiol., 1996, 77(12), p. 1031.*
55. *Lipskaya T.Yu., Trofimova M.E. Biochem. Int., 1989, 18, 6, p. 1149.*
56. *Martin A., Andreu L. et al. Clin.Chem., 1996, 42(9), p. 1501.*
57. *Matsui H., Hashimoto H. et al. Am.Heart. J., 1996, 131(1), p. 24.*
58. *Matsumori A., Furukawa Y. et al. Biochem.Biophys.Res.Comm., 1996, 221(2), p. 391.*
59. *Meissner H., Fleischer S. Biol.Biophys. Acta, 1972, 255, p. 19.*
60. *Miller R.M., Sies H., Park E.M., Thomas J.A. Arch.Biochem.Biophys., 1990, 276, p. 355.*
61. *Mullner M., Sterz F., Binder M. et al. Am.J.Cardiol., 1996, 77(8), p. 581.*
62. *Nevinsky G.A., Ankilova V.N., Lavrik O.I. et al. FEBS Letters, 1982, 149, 1, p. 36.*
63. *Norris R.M., Johnson R.N. et al. Heart, 75(5) p. 481.*
64. *Otsu N., Hirata M., Tuboi S. J.Histochem. Cytochem., 1989, 37, 10, p. 1465.*
65. *Pechan I. Bratisl.Lek.Listy, 1996, 97(7), p. 397.*
66. *Singh R.B., Niaz M.A. et al. Am.J.Cardiol., 1996, 77(4), p. 232.*
67. *Solodky A., Berliner S. et al. Clin.Cardiol., 1996, 19(2) p. 102.*
68. *Timura H., Jorley D. Biochim. Biophys. Acta, 1974 341, p. 157.*
69. *Trask R.V., Billadello J.J. Biochem. Biophys. Acta, 1990, 1049, 2, p. 182.*
70. *Weiss B.M., von-Segesser L.K. et al. J.CardiThorac.Vasc.Anesth., 1996, 10(4), p. 464.*