

УДК 577.164.1+ 577.115 + 577.151: 616.379-008.64

**Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТР-азна АКТИВНІСТЬ  
ТА ТРАНСПОРТУВАННЯ СЕРОТОНІНУ У ФРАКЦІЇ СИНАПТОСОМ  
ГОЛОВНОГО МОЗКУ ЩУРІВ ЗА ГОСТРОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ  
1,2-ДИХЛОРЕТАНОМ ТА ВВЕДЕННЯ НІКОТИНАМІДУ**

Ю. І. ГУБСЬКИЙ<sup>1</sup>, Л. В. ЯНІЦЬКА<sup>1</sup>, М. М. ВЕЛИКИЙ<sup>1</sup>, Т. М. КУЧМЕРОВСЬКА<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Національний медичний університет ім. О. О. Богомольця, Київ;

<sup>2</sup>Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна НАН України, Київ;  
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

*Обнаружено, что при острой интоксикации 1,2-дихлорэтаном (1,2-ДХЭ) в синапсосамах головного мозга крыс наблюдается снижение активности Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТР-азы и нарушение процессов захвата серотонина, особенно выраженное спустя двое суток после интоксикации. Показано, что введение никотинамида (200 мг/кг массы тела) после отравления 1,2-ДХЭ частично нормализует ферментную активность синапсосом и способность к захвату серотонина. Полученные результаты свидетельствуют о целесообразности применения никотинамида в экспериментальной терапии химического поражения головного мозга хлоралканами.*

*К л ю ч е в ы е с л о в а:* никотинамид, 1,2-дихлорэтан, острая интоксикация, захват, высвобождение.

**В**ивчення молекулярних та клітинних механізмів хімічного ураження головного мозку є актуальною проблемою біохімічної нейротоксикології. Серед розповсюджених нейротоксикантів, що призводять до глибоких структурно-функціональних та біохімічних ушкоджень субклітинних структур нейронів, важливе місце належить хлоралканам.

В останні роки особливу увагу привертає вивчення біохімічної токсикології 1,2-дихлоретану (1,2-ДХЕ) – ксенобіотика, що є розповсюдженим органічним розчинником, який широко використовується у промисловості, наприклад як компонент ракетного палива, в сільському господарстві, побуті. Подібно до інших хлоралканів, 1,2-ДХЕ, надходячи в організм людини та теплокровних тварин, спричинює ушкодження мембранних структур багатьох органів і тканин, зокрема головного мозку, печінки, міокарда, нирок, що призводить до важких некрозодистрофічних уражень цих органів. Особливе значення в клініці інтоксикацій 1,2-ДХЕ має ураження центральної нервової системи з розвитком токсичної енцефалопатії. Враховуючи виражений наркотичний ефект 1,2-ДХЕ, застосування цієї сполуки має в наш час важливе медико-соціальне значення в практиці токсикоманій [1, 2].

Разом з тим, незважаючи на потенційну небезпечність для організму людини гострих та хронічних інтоксикацій 1,2-ДХЕ, біохімічні механізми ушкодження структур головного мозку, зокрема серотонінергічної медіаторної системи,

у разі інтоксикації цією сполукою, є недостатньо з'ясованими. У зв'язку з вищезазначеним за сособи фармакологічної корекції ураження нервових клітин за хімічного ушкодження їх хлоралканами є малоефективними.

З огляду на це метою роботи стало вивчення впливу гострої інтоксикації 1,2-ДХЕ на активність Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-АТР-ази та функціональний стан серотонінергічної системи шляхом дослідження транспортування серотоніну в синапсосамах головного мозку щурів, а також можливості корекції введенням нікотинамідом (НАМ) зрушень біохімічних властивостей синапсосомних мембран в отруєних тварин.

#### Матеріали і методи

Моделювання гострої інтоксикації проводили на щурах-самцях лінії Вістар із масою тіла 180–200 г. Отруєння 1,2-ДХЕ спричинювали одноразовим внутрішньочеревним введенням ксенобіотика з розрахунку 3,0 мл/кг маси тіла у вигляді 25%-го розчину на рослинній олії. Дослідження проводили через 24 та 48 год після введення токсиканта. Тварин було поділено на 4 групи: 1-а група – контрольна (тварини, що отримували розчинник), 2-а група – тварини, отруєні 1,2-ДХЕ, що досліджувалися через 24 год, 3-тя група – тварини, отруєні 1,2-ДХЕ, які досліджувалися через 48 год, 4-та група – тварини, отруєні 1,2-ДХЕ, що досліджувалися через 48 год і яким додатково внутрішньочеревно вводили

Нам у дозі 200 мг/кг маси тіла через 1, 24 та 36 год після отруєння.

Евтаназію тварин проводили натщесерце із застосуванням поверхневого ефірного наркозу і швидко вилучали головний мозок. Субклітинні фракції мозку виділяли методом Abita et al. з внесенням 1 мМ PMSF до всіх буферів, які використовували в роботі [3]. Чистоту та морфологічну цілісність синапсом головного мозку шурів контролювали, як описано нами раніше [4].

Визначення активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-ази базується на спектрофотометричному визначенні кінцевого продукту АТР-азних реакцій після утворення ним забарвленого комплексу з молібдатом амонію. Середовище інкубації для визначення сумарної АТР-азної активності, кінцевий об'єм якого становив 1 мл, містило: 30–50 мкг білка, 130 мМ NaCl, 20 мМ KCl, 3 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 3 мМ АТР, 0,2 мМ EDTA, 30 мМ імідазолу, рН 7,4, а для визначення активності тільки  $\text{Mg}^{2+}$ -АТР-ази, крім цих складових, ще  $10^{-4}$  М убаїну — інгібітора  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-ази. Активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-ази визначали за різницею між сумарною активністю АТР-аз та активністю  $\text{Mg}^{2+}$ -АТР-ази і виражали у мкмоль  $\text{P}_i$ /год на 1 мг білка [5].

Спонтанне поглинання  $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ серотоніну (57 мКі/ммоль) синапсосомами вивчали в інкубаційному середовищі, що містило 30 мМ трис-НСІ буфера, рН 7,4; 120 мМ NaCl; 5 мМ KCl; 1 мМ  $\text{CaCl}_2$ ; 1 мМ  $\text{MgCl}_2$ ; 0,5 мМ  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ; 10 мМ глюкози та  $10^{-5}$  М іпроніазиду — інгібітора моноамінооксидази, який вносили для запобігання розщепленню міченого медіатора. До 1 мл інкубаційного середовища вносили 0,5 мг білка синапсом та преінкубували 5 хв при 37 °С. Після цього вносили  $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ серотонін, кінцева концентрація якого становила 1,48 мкмоль/л. Після закінчення інкубації (10 хвилин при температурі 37 °С) проби терміново фільтрували і фільтри GF/C “Whatman” промивали 15 мМ трис-НСІ буфером, рН 7,4. Поглинену синапсосомами радіоактивність вимірювали на висушених фільтрах у ЖС-101 на рідинно-сцинтиляційному спектрометрі “Intertechnique” (Франція).

Для дослідження вивільнення  $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ серотоніну із синапсом, фільтри GF/C “Whatman” із синапсосомами, навантаженими міченим нейромедіатором, поміщали у спеціальну камеру з інкубаційним середовищем вищезазначеного складу, витримували 10 хв за постійного перемішування, після чого в аліквотах підраховували радіоактивність, що вивільнилася, в сцинтиляційній рідині ЖС-103. Поглинання та вивільнення медіатора синапсосомами виражали у відсотках від кількості внесеної радіоактивної мітки.

Вміст білка визначали за методом О. Н. Lowry et al. [6]. Статистичний аналіз одержаних даних проводили з використанням стандартного  $t$ -критерію Стюдента для незв'язаних вибірок [7].

### Результати та обговорення

Транспортна  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-аза плазматичних мембран нейронів, що функціонує за механізмом  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -насоса, забезпечує створення трансмембранного потенціалу збудливих мембран та відіграє важливу роль у механізмі збудження, зворотного поглинання та вивільнення медіаторів терміналами. Оскільки активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-ази, як інтегрального ферменту мембранних структур, залежить від стану ліпідного матриксу біомембран, що порушується за дії ксенобіотиків хлорорганічного походження [8, 9], становило інтерес дослідити  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-азну активність синапсосомих мембран за гострого отруєння 1,2-ДХЕ.

Як свідчать одержані дані, представлені в табл. 1,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-азна активність синапсосомих головного мозку шурів через добу після введення 1,2-ДХЕ збільшується на 45% порівняно з контролем. Таке підвищення активності ферменту можна розглядати як загальну неспецифічну та захисну реакцію організму на отруєння. У разі тривалішої інтоксикації 1,2-ДХЕ (2 доби) активність ферменту в нервових закінченнях знижувалась порівняно з контролем на 25%, що є свідченням токсичної дії хлоралкану на нервові закінчення у головному мозку. Зниження активності ферменту в нервових закінченнях за інтоксикації свідчить про наявність патологічних змін у центральній нервовій системі, що узгоджується із подібним гальмуванням активності ферменту за хвороби Паркінсона, діабетичної нейропатії, енцефаломієліту тощо [10, 11]. Крім того, слід наголосити, що гальмування  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-ази є одним із пускових механізмів підвищення рівня надходження іонів  $\text{Ca}^{2+}$  всередину терміналей за їхнього збудження, і саме цей процес активується під час багатьох патологічних станів. Оскільки відомо, що фосфоліпідам відводиться важлива роль у структурно-функціональній організації транспортних АТР-аз, то не виключено, що виявлені зміни активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТР-азної системи в нервових закінченнях за інтоксикації 1,2-ДХЕ, можуть бути обумовлені впливом токсиканта на фосфоліпідний склад плазматичних мембран. У свою чергу, зміни активності ферменту можуть бути свідченням того, що у процесі хімічного ушкодження головного мозку шурів у першу чергу відбуваються порушення у проведенні збудження, а не в синаптичній передачі.

Т а б л и ц я 1. Активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази синапсом головного мозку щурів у разі гострої інтоксикації 1,2-дихлоретаном (1,2-ДХЕ) та за дії нікотинаміду (НАм)

| Група тварин                   | $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -АТФ-аза (мкмоль $\text{P}_i$ /год на 1 мг білка) |                                      |
|--------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------|
|                                | $M \pm m$                                                                      | $p$                                  |
| Контрольні                     | $12,7 \pm 0,52$ ( $n = 9$ )                                                    | –                                    |
| 1,2-ДХЕ – 24 год               | $18,4 \pm 0,67$ ( $n = 9$ )                                                    | $p_{1-2} < 0,01$                     |
| 1,2-ДХЕ – 48 год               | $9,6 \pm 0,40$ ( $n = 9$ )                                                     | $p_{1-3} < 0,01$<br>$p_{2-3} < 0,01$ |
| 1,2-ДХЕ – 48 год, введення НАм | $11,9 \pm 0,61$ ( $n = 9$ )                                                    | $p_{1-2} > 0,05$<br>$p_{3-4} < 0,01$ |

Введення НАм тваринам, інтоксикованим 1,2-ДХЕ протягом однієї доби, практично не впливало на активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази синапсом. Однак на тлі дводобової інтоксикації 1,2-ДХЕ виразно проявлялась коригувальна дія НАм; при цьому активність ферменту була вище рівня її в отруєних тварин, що не отримували НАм, на 24%, статистично не відрізняючись від значення у контрольних щурів (табл. 1).

Відомо, що одним із механізмів, який забезпечує вилучення нейромедіатору із синаптичної щілини та регулює його концентрацію, є високоафінне та енергозалежне зворотне поглинання нейромедіатору пресинаптичними нервовими закінченнями. Нами було виявлено, що вже через 1 добу після гострої інтоксикації 1,2-ДХЕ поглинання  $[2\text{-}^{14}\text{C}]$ серотоніну зменшується на 12% порівняно з контролем, при цьому збільшення тривалості експозиції організму до дії нейротоксиканта (2 доби) супроводжувалося подальшим зменшенням активності поглинання медіатору синапсами головного мозку щурів (на 45%) – табл. 2, корелюючи в часі зі значним ушкодженням синапсомних мембран, про що свідчить зазначене вище нами зниження активності  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази. Разом з тим, у проведених експе-

риментах не було виявлено істотних змін за дії 1,2-ДХЕ ступеня швидкості вивільнення серотоніну із синапсомних везикул.

Таким чином, проведені нами дослідження свідчать, що серед важливих патогенетичних механізмів ушкоджувальної дії 1,2-ДХЕ на головний мозок є його вплив на функціонування  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази синапсомних мембран та на серотонінергічну медіаторну систему.

Відомо, що за гострої інтоксикації біоцидними ксенобіотиками у клітинах розвиваються явища оксидативного стресу, що проявляється зростанням вмісту активних форм кисню, посиленням процесів вільнорадикальної пероксидації ліпідів, які впливають на конформаційні зміни макромолекул, спричинюють ураження мембранних структур та ядерного хроматину, порушення внутрішньоклітинної компартменталізації  $\text{Ca}^{2+}$  [12]. При цьому змінюється впорядкованість мембранних фосfolіпідів та білків, що супроводжується зниженням плинності мембран, підвищенням їхньої чутливості до дії фізіологічних агоністів та відповідними змінами у функціонуванні внутрішньоклітинних регуляторних систем.

Не виключено, що за інтоксикації відбувається активація NO-синтаз, яка призводить до

Т а б л и ц я 2. Поглинання  $^{14}\text{C}$ -серотоніну (в імх  $\times 10^3$ /год на 0,5 мг білка) синапсами головного мозку щурів та вивільнення його з них за гострої інтоксикації 1,2-дихлоретаном (1,2-ДХЕ) та за дії нікотинаміду (НАм)

| Групи тварин                   | Поглинання серотоніну                                                | Вивільнення серотоніну                                             |
|--------------------------------|----------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Контрольні                     | $76226 \pm 47$ ( $n = 6$ )                                           | $1504 \pm 93$ ( $n = 9$ )                                          |
| 1,2-ДХЕ – 24 год               | $68368 \pm 64$ ( $n = 6$ )<br>$p_{1-2} < 0,001$                      | $1586 \pm 30$ ( $n = 6$ )<br>$p_{1-2} > 0,05$                      |
| 1,2-ДХЕ – 48 год               | $52463 \pm 72$ ( $n = 6$ )<br>$p_{1-3} < 0,001$                      | $1711 \pm 71$ ( $n = 6$ )<br>$p_{1-3} > 0,05$                      |
| 1,2-ДХЕ – 48 год, введення НАм | $58024 \pm 52$ ( $n = 6$ )<br>$p_{1-4} < 0,001$<br>$p_{3-4} < 0,001$ | $1667 \pm 129$ ( $n = 6$ )<br>$p_{1-4} > 0,05$<br>$p_{3-4} > 0,05$ |

зростання концентрації оксиду азоту [13, 14]. У свою чергу, розвиток оксидативного стресу за інтоксикації в нервових тканинах призводить до порушення процесів генерації та проведення збудження по рухових нервах, а також гальмування передачі збудження в синапсах [15].

Для оцінки можливостей компенсації функціональних та метаболічних порушень, спричинених 1,2-ДХЕ, інтоксикованим тваринам вводили НАМ, який є попередником біосинтезу нікотинамідних коферментів. Нами не виявлено будь-якого впливу введеного НАМ на тлі одностодової інтоксикації 1,2-ДХЕ на процеси поглинання і вивільнення серотоніну, які за такого короткого терміну інтоксикації практично не змінювалися. Проте, на тлі дводобової інтоксикації 1,2-ДХЕ НАМ приводив до певної корекції процесів поглинання  $[2-^{14}\text{C}]$ серотоніну (табл. 2), що узгоджується з даними, одержаними раніше на синапсоматтах та везикулах синаптичних мембран за експериментального паркінсонізму [16, 17].

Можна припустити, що виявлена нами нормалізація під впливом НАМ процесів поглинання серотоніну за хімічного ушкодження синапсоматних мембран може реалізовуватись завдяки антиоксидантним властивостям моноаміну та його здатності активувати процеси транспортування, утилізації та окислення глюкози — основного енергетичного субстрату мозку. Дія НАМ на серотонінергічну медіаторну систему за інтоксикації 1,2-ДХЕ може також опосередковуватись через зростання вмісту  $[2-^{14}\text{C}]$ серотоніну в клітинах головного мозку, який синтезується із введеного НАМ [19]. Зв'язування  $\text{NAD}^+$  специфічними рецепторами синаптичних мембран суттєво модифікує обмін нейромедіаторів головного мозку шурів. Не варто також виключати можливість існування алостеричної регуляції  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази з боку самого  $\text{NAD}^+$ , рівень якого зростає за введення високих доз НАМ.

Таким чином, проведені дослідження свідчать про те, що НАМ здатен коригувати процеси поглинання серотоніну в разі пошкодження синапсомат головного мозку 1,2-ДХЕ, забезпечуючи більш високу резистентність нервової системи до дії хімічного ушкоджувального фактора. Позитивний вплив НАМ на функціонування мозку за інтоксикації може також опосередковуватися нормалізацією його дії на вільнорадикальні та пероксидні процеси, що інтенсифікуються за інтоксикації хлоралканами, запобігаючи тим самим окислювальному пошкодженню ліпідних та білкових компонентів біомембран, зокрема пригнічуючи агрегацію амілоїдного пептиду. Слід також мати на увазі, що  $\text{NAD}^+$ , який синтезується з нікотинамідом, є субстратом у реакціях утво-

рення цикло-ADP-рибози та полі-ADP-рибози — регуляторів процесів сигнальної трансдукції та генної експресії клітин [19]. Не виключена можливість і прямого впливу НАМ на збудливі мембрани через ліганд-рецепторну взаємодію або ж безпосередньо на пресинаптичні ауторецептори серотоніну.

Узагальнюючи одержані результати, можна підсумувати, що в основі механізму нейротоксичної дії 1,2-ДХЕ лежить його здатність інгібувати активність  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -АТФ-ази та порушувати функціонування серотонінергічної медіаторної системи, що може бути наслідком пошкодження ліпідно-білкового матриксу синапсоматних мембран нейронів за дії хімічного токсиканта. Крім того, як свідчать одержані дані, вибрана нами фармакологічна доза НАМ (200 мг/кг маси тіла) може бути рекомендована як антиоксидантний засіб за експериментальної терапії у разі гострих отруєнь галогеноалканами, зокрема 1,2-ДХЕ. Результати роботи доповнюють розуміння механізмів метаболічних та функціональних порушень за гострої інтоксикації 1,2-ДХЕ та сприятимуть розробленню нових ефективних препаратів, дія яких буде спрямована на корекцію порушень функціонування нервової системи за інтоксикації хлорованими похідними вуглеводнів з наркотичними властивостями.

#### **$\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPase ACTIVITY AND SEROTONIN TRANSPORT IN THE RAT BRAIN SYNAPTOSOMES FRACTIONS UNDER ACUTE 1,2-DICHLOROETHANE INTOXICATION AND NICOTINAMIDE ADMINISTRATION**

*Yu. I. Gubsky<sup>1</sup>, L. V. Yanitska<sup>1</sup>,  
M. M. Veliky<sup>1</sup>, T. M. Kuchmerovska<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv;

<sup>2</sup>Palladin Institute of Biochemistry, National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv;  
e-mail: kuch@biochem.kiev.ua

#### **S u m m a r y**

Alterations of  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity and serotoninergic system functioning were investigated in brain synaptosomes fractions of rats under experimental acute 1,2-dichloroethane (DChE) intoxication. It was shown that  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity was markedly increased (by 41,8%) in a period of 24 h after DChE intoxication and decreased (by 27%) after 48 h intoxication. The level of  $[2-^{14}\text{C}]$ -serotonin uptake by synaptosomes was progressively diminished after 24 and 48 h after DChE injection whereas the activity of monoamine uptake proved to

be unchanged. Nicotinamide (200 mg/kg of body weight) was administered to rats subjected to DChE 1, 24 and 36 h after poisoning. The treatment of rats with nicotinamide resulted in some normalization of brain synaptosomal  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activity and serotonin uptake controlled at 48 h after DChE intoxication.

**К е у w o r d s:** nicotinamide, dichlorethane, acute intoxication, uptake, release.

1. *Бережной Р. В.* Судебно-медицинская экспертиза отравлений техническими жидкостями. М.: Медицина. 1977. 208 с.
2. *Шаповалова В. А., Шаповалов В. В., Губский Ю. И. и др.* Лекарственные средства в наркопсихофармакологии. Харьков: Прапор. 2002. 592 с.
3. *Abita J. P., Chicheportiche R., Schweits H., Lasdunski M.* // *Biochemistry*. 1977. **16**, N 9. С. 1838–1864.
4. *Халмуратов А. Г., Пархомец П. К., Кучмеровская Т. М., Чичковская Г. В.* // *Биохимия*. 1983. **48**, вып. 8. С. 1287–1292.
5. *Rathbun W. B., Betlach M. W.* // *Anal. Biochem*. 1969. **28**. Р. 436–445.
6. *Lowry O. H., Rosenrough N. I., Farr A. L., Randal R. I.* // *J. Biol. Chem*. 1951. **193**, N 1. Р. 265–275.
7. *Плохинский И. А.* Биометрия. М.: Изд-во МГУ. 1970. 368 с.
8. *Болдырев А. А., Курелла Е. Г., Тюлина О. В.* // *Российская Акад. наук. Докл. Акад. наук*. 1995. **342**, № 4. С. 546–548.
9. *Губский Ю. И.* Коррекция химического поражения печени. Киев: Здоров'я. 1989. 168 с.
10. *Кучмеровская Т. М., Чичковская Г. В., Шиманский И. А. и др.* // *Доповіді НАН України*. 2001. № 3. С. 185–188.
11. *Rabini R. A., Galassi R., Fumelli P. et al.* // *Diabetes*. 1994. **43**. Р. 915–919.
12. *Губський Ю. І.* // *Журн. АМН України*. 1995. **1**, № 2. С. 216–229.
13. *Burkart V., Koike T., Brenner H. H. et al.* // *Diabetologia*. 1992. **35**, N 35. Р. 1028–1034.
14. *Welsh N., Margulis B., Borg L. A. et al.* // *Mol. Med*. 1995. **7**. Р.806–820.
15. *Кучмеровская Т. М.* // *Нейрохимия*. 1999. **16**, № 3. С. 211–214.
16. *Кучмеровская Т. М.* // Там же. 1998. **15**, вып. 2. С. 153–158.
17. *Кучмеровська Т. М., Донченко Г. В., Фоменко Г. Й. та ін.* // *Укр. біохім. журн.* 2001. **73**, № 6. С. 108–112.
18. *Кучмеровская Т. М., Донченко Г. В., Пакирбаева Л. В. и др.* // *Нейрохимия*. 2000. **17**, № 4. С. 309–312.
19. *Великий Н. Н., Обросова И. Т., Ефимов А. С. и др.* // *Вопросы мед. химии*. 1992. **38**, № 4. С. 45–52.

Отримано 06.06.2004