

П. А. Каліман, К. В. Стрельченко, Т. В. Бараннік, І. В. Нікітченко,
Н. М. Іншина, О. В. Павиченко, В. П. Филімоненко

Метаболізм гему та гемопротейнів і деякі показники антиоксидантної системи в еритроцитах і тканинах щурів при фенілгідразиновій анемії

Установлено, що зниження активності ряду антиоксидантних ферментів в еритроцитах в перші часи після введення крысам фенілгідразину (7 мг/100 г) супроводжується накопленням в сыворотке крови гемсодержащих соединений, появлением в печени свободного гема и снижением содержания цитохрома P450. Выявлены тканеспецифические особенности динамики активности изученных ферментов антиоксидантной защиты и содержания восстановленного глутатиона, которые могут быть обусловлены различиями в содержании общего и свободного гема в данных органах. Обсуждается роль ключевых ферментов биосинтеза и деградации гема в адаптации метаболизма при действии фенілгідразина.

ВСТУП

Фенілгідразин є класичним гемолітичним агентом, котрий при надходженні до організму ссавців спричинює гемоліз внаслідок модифікації гемоглобіну [23] та пероксидації ліпідів мембран еритроцитів, що призводить до розвитку анемії [12, 16]. Гем лізованих еритроцитів надходить до печінки та інших тканин рецептор-опосередкованим шляхом і безпосередньо як ліпофільна молекула. Накоплення гему, активного прооксиданту [13], викликає зміщення рівноваги системи прооксиданти – антиоксиданти в бік надмірного утворення активних метаболітів кисню, що модифікують біомолекули і спричинюють розвиток оксидативного стресу [2]. Модифікація гемопротейнів та їх руйнування під впливом фенілгідразину [14,23] спричинює накоплення відновленого заліза в печінці [10], що посилює вільнорадикальне окиснення.

Формування захисних реакцій при оксидативному стресі опосередковане появою активних метаболітів кисню та реалізується через активацію систем антиоксидантного захисту, що спрямоване на адаптацію метаболізму та відновлення внутрішньоклітинного гомеостазу [24]. Враховуючи прооксидантні властивості гему та значення гемопротейнів у захисних реакціях, значну роль в адаптації метаболізму при оксидативному стресі відіграють ключові ферменти біосинтезу та катаболізму гему, а також гемзв'язувальні білки [2, 18].

Метою нашої роботи було вивчення деяких показників системи антиоксидантного захисту в еритроцитах, печінці, нирках і селезінці, а також метаболізму гему та гемопротейнів у цих органах щурів у різні терміни після одногоразового введення фенілгідразину.

МЕТОДИКА

Експеримент проведено на білих щурах лінії Вістар масою 150 – 180 г. Анемію моделювали [6] внутрішньоочередним введенням фенілгідрозину (7 мг/100 г). Контрольним тваринам вводили відповідний об'єм 0,9%-го NaCl. Тварин декапітували під легким ефірним наркозом через 0,5, 2, 6 та 24 год після введення фенілгідрозину. Кров збирали в склянку з 4%-м розчином цитрату натрію для отримання еритроцитів і окремо для отримання сироватки. Еритроцити відмивали від плазми фізіологічним розчином при повторному центрифугуванні при 4 °С. Печінку перфузували охолодженим фізіологічним розчином *in situ*.

Накопичення продуктів гемолізу оцінювали за різницею оптичної густини (ΔД) сироватки крові в Soret-ділянці (390 – 450 нм) і виражали в ΔД/мг білка [15]. Вміст загального геміу визначали в гомогенатах тканин методом диференційної спектрофотометрії [25] і виражали в наномолях на 1 мг білка.

Активність δ-амінолевулінатсинтази визначали у гомогенаті печінки за методом Marver за утворенням δ-амінолевулінової кислоти (АЛК) та виражали в наномолях δ-АЛК за 1 год на 1 мг білка [19]. Активність гемоксигенази визначали в гомогенаті тканин, розраховували за кількістю утвореного білірубіну і виражали в наномолях білірубіну за 1 хв на 1 мг білка [26].

Активність триптофан-2,3-діоксигенази визначали в гомогенаті печінки за вмістом кінуреніну, що утворився з L-триптофану [7]. Активність холоферменту триптофан-2,3-діоксигенази визначали без екзогенного геміу в середовищі інкубації, а загальну активність – при його наявності. Активність ферменту виражали в наномолях кінуреніну за 1 год на 1 мг білка. Насичення триптофан-2,3-діоксигенази ге-

мом оцінювали за співвідношенням активності холоферменту до загальної активності та виражали у відсотках.

Вміст цитохрому Р-450 визначали у гомогенаті печінки методом диференційної спектрофотометрії [20] і виражали в наномолях на 1 мг білка.

Активність каталази визначали в гомогенаті тканин і гемолізаті еритроцитів щурів спектрофотометрично за зниженням поглинання перекису водню та виражали в мікромолях H_2O_2 за 1 хв на 1 мг білка [22]. Активність супероксиддисмутази визначали в гомогенаті тканин спектрофотометрично за інгібуванням реакції відновлення тетранітротетразольового синього супероксидними радикалами, що утворюються у ксантиноксидазній реакції, до формазану і виражали в умовних одиницях активності за 1 хв на 1 мг білка. За умовну одиницю активності СОД приймали 50 % інгібування швидкості відновлення тетранітротетразольового синього [3].

Вміст відновленого глутатіону (GSH) визначали в еритроцитах і тканинах спектрофотометрично за поглинанням комплексу з алоксаном при 305 нм і виражали в мікромолях на 1 мг тканини, або на 1 мл еритроцитарної маси [5].

Активність глутатіонпероксидази в еритроцитах визначали в гемолізаті спектрофотометрично при 260 нм за накопиченням окисненого глутатіону і виражали в мілімолях GSSG за 1 хв на 1 мг білка [9]. Активність глутатіон-S-трансферази у гомогенаті печінки визначали спектрофотометрично при 340 нм за поглинанням комплексу глутатіону з 1-хлор-2,4-динітробензолом і виражали в наномолях 1-хлор-2,4-динітробензолу за 1 хв на 1 мг білка [4].

Активність глюкозо-6-фосфатдегідрогенази визначали спектрофотометрично за зміною поглинання НАДФН (340 нм) при 37° С і виражали в наномолях НАДФН за 1 хв на 1 мг білка [8].

Вміст білка визначали за методом Лоурі в модифікації Міллера [21]. Достовірність змін оцінювали за непараметричним тестом Манна-Уїтні [1].

У роботі використовували такі реактиви: тріс, L-триптофан, НАДФ виробництва «Reanal» (Угорщина), глюкозо-6-фосфат виробництва «Sigma» (США) та інші реактиви вітчизняного виробництва (марки ч.д.а.).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з отриманими результатами про підвищення оптичної густини сироватки крові в Soret-ділянці (табл.1), фенілгідрозин викликає значне накопичення гемвмісних сполук у сироватці крові через 2 та 6 год, що свідчить про інтенсивний гемоліз еритроцитів. Причинами гемолізу може бути різке зниження активності антиоксидантних ферментів еритроцитів – глутатіонпероксидази та каталази, а також вмісту відновленого глутатіону в перші години дії фенілгідрозину (див. табл. 1). Відомо, що останній безпосередньо взаємодіє з гемом гемопротейнів і викликає їх

руйнування [23]. Пошкодження молекул гемоглобіну та каталази призводить до вивільнення гему та іонів заліза, а також до активації вільнорадикальних процесів. Можна припустити, що зниження вмісту глутатіону є результатом його взаємодії з вільним гемом, що за даними літератури розглядається як захисний механізм при пошкодженні молекулярної структури гемоглобіну [11].

Гем лізованих еритроцитів може надходити до різних органів і тканин, в тому числі до печінки, нирок і селезінки. Надходження гему до печінки збігається з даними про підвищення активності холоферменту триптофан-2,3-діоксигенази та ступеня насичення ферменту гемом у перші години після введення фенілгідрозину (табл. 2). Відомо, що в печінці триптофан-2,3-діоксигеназа представлена в формі активного зв'язаного з гемом ферменту (холофермент) і вільного апоферменту, що здатний зв'язувати вільний гем [7]. Таким чином, триптофан-2,3-діоксигеназа розглядається як один з гемзв'язувальних білків печінки, який може блокувати прооксидантну дію вільного гему.

Таблиця 1. Вміст відновленого глутатіону, активність деяких антиоксидантних ферментів у еритроцитах та оптична густина сироватки крові щурів у різні терміни після введення фенілгідрозину (M±m)

Показник	Контроль	Час після дії препарату			
		0,5 год	2 год	6 год	24 год
Вміст глутатіону	2,65±0,09 n = 6	1,09±0,14* n = 5	1,44±0,15* n = 6	1,39±0,11* n = 6	2,53±0,31 n = 4
Активність глутатіонпероксидази	25,6±0,65 n = 6	21,2±1,02* n = 6	21,5±0,93* n = 6	20,9±1,91* n = 6	30,00±3,89 n = 5
каталази	74±1,03 n = 6	65,2±2,52* n = 6	70,5±0,60* n = 6	52,9±4,19* n = 6	76,4±2,98 n = 6
глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази	24,3±1,08 n = 6	26,5±2,36 n = 5	25,7±1,90 n = 6	23,5±5,60 n = 4	22,8±0,89 n = 6
Оптична густина сироватки крові в Soret-ділянці	0,033±0,002 n = 5	0,038±0,008 n = 6	0,074±0,015* n = 5	0,054±0,007* n = 4	0,043±0,008 n = 6

Примітка. Тут і в табл. 2-5 P<0,05 відносно контролю.

Різна динаміка вмісту відновленого глутатіону та активності ферментів антиоксидантної системи в тканинах, що досліджувалися, може бути пов'язана з особливостями надходження з кров'яного руслу вільного гему та фенілгідазину. Відомо, що гем лізованих еритроцитів і фенілгідазин метаболізуються в печінці [10, 18]. Згідно з отриманими результатами, в печінці вже в перші години дії фенілгідазину спостерігається зниження вмісту відновленого глутатіону (табл.3) та активності глутатіон-S-трансферази, підвищення активності СОД, а також різке зниження вмісту цитохрому Р450, що безпосередньо метаболізує фенілгідазин. Таким чином, іншим джерелом вільного гему в печінці може бути гем зруйнованих під впливом фенілгідазину гемопротейнів. Накопичення гему і його модифікація феніл-

гідазином призводять до появи значної кількості вільних іонів заліза [10].

Введення фенілгідазину не викликає змін вмісту відновленого глутатіону у нирках, що може бути зумовлено незначним надходженням до них вільного гему. Зниження активності СОД, глутатіон-S-трансферази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази (табл. 4) може бути спричинене надходженням до нирок фенілгідазину та продуктів його метаболізму.

Підвищення вмісту відновленого глутатіону та активності каталази в селезінці в перші години дії фенілгідазину може бути пов'язане зі значним накопиченням у крові еритроцитів, мембрана яких модифікована фенілгідазином (табл. 5). Надходження до селезінки цих еритроцитів може пояснювати зміни активності антиоксидантних ферментів уже через 2 і 6 год.

Таблиця 2. Деякі показники метаболізму гему в печінці щурів у різні терміни після введення фенілгідазину (M±m)

Показник	Контроль	Час після дії препарату			
		0,5 год	2 год	6 год	24 год
Активність триптофан-2,3-діоксигенази	2,98±0,13 n = 6	3,00±0,18 n = 6	5,07±0,21* n = 5	3,51±0,05* n = 6	3,99±0,45* n = 6
Загальна активність триптофан-2,3-діоксигенази	7,27±0,20 n = 6	7,30±0,15 n = 5	10,5±0,35* n = 6	8,30±0,08* n = 6	8,60±0,60* n = 6
Ступінь насичення триптофан-2,3-діоксигенази гемом, %	40,9±1,00 n = 6	43,2±2,65 n = 6	48,1±1,09* n = 6	42,4±0,88 n = 5	46,7±2,84* n = 6
Вміст загального гему	0,80±0,07 n = 6	0,76±0,08 n = 4	0,64±0,08 n = 5	0,72±0,13 n = 4	1,34±0,25* n = 4
Вміст цитохрому Р450	0,12±0,009 n = 6		0,089±0,009* n = 6	0,082±0,004* n = 5	0,099±0,005* n = 6
Активність β-амінолевулінат-синтази	0,085±0,004 n = 6	0,049±0,008* n = 6	0,232±0,016* n = 6	0,154±0,003 n = 5	0,098±0,005* n = 6
гемоксигенази	0,043±0,005 n = 6	0,042±0,007 n = 6	0,046±0,007 n = 6	0,054±0,01 n = 5	0,074±0,003* n = 4

Таблиця 3. Вміст відновленого глутатіону й активність деяких антиоксидантних ферментів у печінці щурів у різні терміни після введення фенілгідразину (M±m)

Показник	Контроль	Час після дії препарату		
		2 год	6 год	24 год
Вміст глутатіону	5,40±0,27 n = 6	3,77±0,44* n = 5	3,63±0,51* n = 4	6,45±1,44 n = 5
Активність				
глутатіон-S- трансферази	611±30 n = 5	499±25* n = 6	570±33 n = 6	527±47 n = 6
глюкозо-6-фосфат дегідрогенази	46±4 n = 6	45,1±6 n = 6	56,6±3 n = 6	45,5±5 n = 6
супероксиддисмутази	1558±44 n = 6	1668±64 n = 5	2024±91* n = 6	1865±28* n = 6
каталази	258±12,7 n = 6	230±19 n = 5	238±14 n = 5	239±15 n = 6

Таким чином, введення фенілгідразину викликає значні зміни антиоксидантно-прооксидантного статусу в тканинах, які вивчалися. Ці зміни пов'язані, насамперед, з метаболізмом гему і гемопротейнів. Пошкодження та руйнування гемопротейнів еритроцитів і тканин під впливом фенілгідразину викликає значне накопичення вільного гему та іонів заліза, що за умов інгібування антиоксидантних ферментів призводить до накопичення активних ме-

таболітів кисню. Наявність значного вмісту H₂O₂, що утворюється в супероксиддисмутазній та інших метаболічних реакціях при активації вільнорадикального окиснення, зумовлює при накопиченні Fe²⁺ перебіг реакції Фентона та утворення гідроксильного радикала, що має високу реакційну активність і пошкоджує клітинні структури.

За цих умов велике значення має функціонування системи ключових ферментів

Таблиця 4. Деякі показники антиоксидантно-прооксидантного статусу, вміст загального гему та активність гемоксигенази в нирках щурів у різні терміни після введення фенілгідразину (M±m)

Показник	Контроль	Час після дії препарату		
		2 год	6 год	24 год
Вміст глутатіону	3,26±0,13 n = 6	2,81±0,26 n = 6	3,22±0,36 n = 5	3,07±0,74 n = 5
Активність				
глутатіон-S- трансферази	433±34 n = 6	395±28 n = 6	422±35 n = 6	322±30* n = 5
глюкозо-6-фосфатдегідрогенази	37±2,7 n = 6	30,4±2,2 n = 5	38±5,0 n = 6	28,7±2,8* n = 5
супероксиддисмутази	2015±87 n = 6	1439±101* n = 6	1681±132* n = 6	1359±55* n = 6
каталази	150±1,07 n = 6	146±2,74 n = 5	119±7,89* n = 6	145±12,6 n = 4
Вміст загального гему	0,177±0,24 n = 6	0,158±0,19 n = 6	1,61±0,22 n = 5	1,81±0,60 n = 4
Активність гемоксигенази	0,043±0,005 n = 6	0,042±0,005 n = 6	0,050±0,009 n = 6	0,039±0,004 n = 4

Таблиця 5. Деякі показники антиоксидантно-прооксидантного статусу та активність гемоксигенази в селезінці щурів у різні терміни після введення фенілгідразину (M±m)

Показник	Контроль	Час після дії препарату		
		2 год	6 год	24 год
Вміст глутатіону	2,25±0,12 n = 6	3,06±0,29* n = 6	3,24±0,13* n = 5	4,45±0,63* n = 4
Активність супероксиддисмути	510±22,2 n = 6	544±59,3* n = 6	523±24,0 n = 5	620±19,1* n = 5
каталази	31,0±2,11 n = 6	36,7±0,51* n = 6	38,2±2,25* n = 6	48,3±3,14* n = 6
гемоксигенази	0,127±0,008 n = 5	0,138±0,006 n = 4	0,147±0,007 n = 6	0,203±0,012* n = 6

метаболізму гему, а також гем- і залізо- зв'язувальних білків. Оновлення гемопротейнів внаслідок синтезу *de novo* забезпечується, насамперед, індукцією ключового ферменту синтезу гему – δ -амінолевулінатсинтази, що спостерігалось в печінці вже через 2 год дії фенілгідразину. Підвищення швидкості синтезу гему призводить до підвищення вмісту загального гему та формування нових гемопротейнів, у тому числі триптофон-2,3-діоксигенази та цитохромів P450.

Паралельно спостерігається індукція ключового ферменту деградації гему – гемоксигенази. Відомо, що гемоксигеназа-1 – маркерний білок оксидативного стресу. Вона індукується сполуками, котрі активують вільнорадикальне окиснення та спричинюють гемоліз еритроцитів [18]. Згідно з отриманими результатами введення фенілгідразину викликає підвищення гемоксигеназної активності в печінці та селезінці і не впливає на активність ферменту в нирках, що збігається з припущенням про незначне надходження вільного гему до нирок (див. табл. 4, 5). Підвищення активності гемоксигенази призводить до зв'язування вільного гему і його деградації з утворенням монооксиду вуглецю, заліза та білівердину IX α . Останній відновлюється білівердинредуктазою до білірубину, що проявляє антиоксидантні властивості [17]. Монооксид

вуглецю є сигнальною молекулою [27], а іони заліза індукують синтез білка феритину, що захищає від втрати вільного заліза, необхідного для утворення нових гемопротейнів [18].

Таким чином, отримані результати свідчать про тканинспецифічні особливості динаміки показників антиоксидантного стану та метаболізму гему при дії фенілгідразину. Враховуючи значне пошкодження гемопротейнів уже в перші години дії цього гемолітичного агента і прооксидантні властивості вільного гему та іонів заліза, індукцію ключових ферментів метаболізму гему можна розглядати як складову частину антиоксидантного захисту й адаптації метаболізму при анемії, що викликана введенням фенілгідразину.

P.A. Kaliman, K.V. Strel'chenko, T.V. Barannik, I.V. Nikitchenko, N. N. Inshina, O.V. Pavichenko, V.P. Philimonenko

METABOLISM OF HEME AND HEMOPROTEINS AND SOME INDICIES OF ANTIOXIDANT SYSTEM IN ERYTHROCYTES AND RAT TISSUES UNDER ANEMIA, CAUSED BY PHENYLHYDRAZINE ADMINISTRATION

The decrease of activity of several antioxidant enzymes in erythrocytes in the first hours after injection of phenylhydrazine to rats (7 mg per 100 g body weight) was found to be accompanied by accumulation of heme-containing compounds in rat serum and appearance of free heme in liver and decrease of cytochrome P450 content. Tissue-specific features of dynamics of activity of enzymes studied and reduced glutathione content were revealed, that might be caused by differences in

total and free heme content in these organs. The role of key enzymes of heme biosynthesis and degradation in adaptation of metabolism under phenylhydrazine action is discussed.

Karasin's National University, Kharkov

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гублер Е.В., Генкин А.А. Применение непараметрических критериев статистики в медико-биологических исследованиях. – Л.: Медицина, 1973. – 144 с.
2. Калиман П.А., Баранник Т.В. Метаболизм гема и оксидативный стресс // Укр. биохим. журн. – 2001. – 73, № 1. – С. 5 – 15.
3. Ланкин В.З., Гуревич С.М. Ингибирование перекисления липидов и детоксикация липоперекисей защитными ферментативными системами (супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза и глутатионредуктаза) при экспериментальном злокачественном росте// Докл. АН СССР. – 1976. – 226, № 3. – С. 705 – 708.
4. Мартинчик А. Н., Бондарев Г. И. Активность глутатионредуктазы и глутатион-S-арилтрансферазы в печени крыс в зависимости от содержания восстановленного глутатиона// Вопр. мед. химии. – 1986. – 32, вып. 2. – С. 39 – 43.
5. Путилина Ф. Е. Определение содержания восстановленного глутатиона в тканях. – В кн.: Методы биохимических исследований. – 1982. – С. 183 – 185.
6. Саркисов Д.С., Ремезов П.И. Воспроизведение болезней человека в эксперименте. – М., 1960. – 780 с.
7. Badawy A.A., Evans M. The effects of chemical porphyrins and drugs on the activity of rat liver tryptophan pyrrolase//Biochem. J. – 1973. – 136, № 4 – P. 885 – 892.
8. Bottomley R. H., Pilot H.C., Potter V.R., Morris H.P. Metabolic adaptation in rat hepatomas// Cancer Res. – 1963. – 23, № 3 – P. 400 – 409.
9. Edward M. Scott. Purification and Properties of Glutathione Peroxidase of Human Erythrocytes// J. Biol. Chem. – 1963. – 238, № 12. – P. 3928 – 3933.
10. Ferrali M., Signorine C., Sugherini L. et al. Release of free, redox-active iron in the liver and DNA damage following phenylhydrazine intoxication// Biochem Pharmacol. – 1997. – 53, № 11 – P. 1743 – 1751.
11. Fujii S., Dale G.L., Beutler E. Glutathione-dependent protection against oxidative damage of the human red cell membrane// Blood. – 1998. – 34, № 10. – P. 1632 – 1644.
12. Goldstain B. D., Rozen M.G., Kunis R. Role of red cell lipid peroxidation in hemolysis due to phenylhydrazine// Biochem. Pharmacol. – 1980. – 29. – P. 1355 – 1359.
13. Gutteridge J. M. S., Smith A. Antioxidant protection by haemopexin of haem – stimulated lipid peroxidation// Biochem J. – 1988. – 256, № 3 – P. 861 – 865.
14. Hashmi A. N., Saleemuddin M. Phenylhydrazine caused sulfhydryl oxidation and protein aggregation in hemoglobin-free human erythrocyte membranes// Biochem. Mol. Biol. Int. – 1986. – 40, № 3 – P. 543 – 550.
15. Hrkal Z., Muller-Eberhard U. Partial characterization of the heme-binding serum glycoproteins rabbit and human hemopexin// Biochemistry. – 1971. – 10, № 10. – P. 1746 – 1750.
16. Jain S.K., Hochstein P. Generation of superoxide radicals by hydrazine. Its role in phenylhydrazine-induced hemolytic anemia// Biochem. Biophys. Acta. – 1979. – 586. – P. 128 – 139.
17. Llesuy S.F., Tomaro M.L. Heme oxygenase and oxidative stress. Evidence of involvement of bilirubin as physiological protector against oxidative damage// Ibid. – 1994. – 1223, № 1. – P. 9 – 14.
18. Maines M.D. Heme Oxygenase: Clinical Applications and Functions: FL: Inc. Boca Ration, Press CRC, 1992. – P. 266.
19. Marver H. S., Collins A., Thshudi D. R. Aminolevulinic acid synthetase. I. Studies in liver homogenate// J. Biol. Chem. – 1966. – 241, № 19. – P. 4323 – 4329.
20. Matsubara T., Koike M., Touchi A. et. al. Quantitative determination of cytochrome P-450 in rat liver homogenate// Anal. Biochem. – 1976. – 75. – P. 596 – 603.
21. Miller G.L. Protein determination for large numbers of samples// Anal. Chem. – 1959. – 31, № 5. – P. 964 – 966.
22. Murklund S., Nordensson J., Back O. Normal Cu, Zn-superoxide dismutase, Mn-Sod, catalase and glutathione peroxidase in Werner's syndrome// J. Gerontol. – 1981. – 36, № 4. – P. 405 – 409.
23. Ohars A. N-Phenylprotoporphyrin IX formation in the hemoglobin-phenylhydrazine reaction// J. Biol. Chem. – 1982. – 257, № 11. – P. 6231 – 6241.
24. Peng J., Jonnes G. L., Watson K. Stress Proteins as Biomarkers of Oxidative Stress: Effects of Antioxidant Supplements// Free Radic. Biol. Med. – 2000. – 28, № 11 – P. 1598 – 606.2
25. Paul K. G., Theorell H., Akesson A. The molar light absorption of pyridine ferroprotoporphyrin (pyridine haemochromogen)//Acta Chem. Scand. – 1953. – 7. – P. 1284 – 1287.
26. Sardana M.K., Sassa S., Kappas A. Hormonal regulation of heme oxygenase induction in avian hepatocyte culture// Biochem. Pharmacol.— 1985. – 34, № 16. – P. 2937-2944.
27. Verma A., Hirsch D. J., Glatt C. E. et al. Carbon monoxide: a putative neural messenger// Science. – 1993. – 259, № 7. – P. 381 – 384.