

СТАН Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-АЗНОЇ ТА NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ У ЛІМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ ХВОРИХ НА РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ ТА АНКІЛОЗИВНИЙ СПОНДИЛОАРТРИТ

Р. В. Фафула, У. П. Єфремова, З. Д. Воробець

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького

Досліджено зміни Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної та NO-синтазної активності сапонін-перфорованих лімфоцитів периферичної крові у хворих на ревматоїдний артрит та анкілозивний спондилоартрит. Показано достовірне зниження Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної активності, що ймовірно пов'язано з енергодефіцитом в лімфоцитах за умов розвитку ревматичної патології. Відмічається також достовірне зниження ензиматичної активності ендотеліальної NO-синтази в лімфоцитах периферичної крові хворих на ревматоїдний артрит та анкілозивний спондилоартрит. Водночас, активність індукцйбельної NO-синтази за умов розвитку ревматичної патології достовірно зростає. Досліджувані ензиматичні системи повторно визначали у хворих на РА та АСА після проведеного лікування у стаціонарі. Спостерігається наблизнення значень активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-ази та eNOS до їх контрольних значень, що може свідчити про незначне відновлення у функціонального стану імунікомпетентних клітин після проведеного лікування хворих у стаціонарі.

Ключові слова: Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-аза, NO-СИНТАЗА, ЛІМФОЦИТИ, РЕВМАТОЇДНИЙ АРТРИТ, АНКІЛОЗИВНИЙ СПОНДИЛОАРТРИТ

Однією з актуальних проблем сучасної ревматології є вивчення патогенетичних механізмів імунної системи при численних захворюваннях, насамперед, ревматоїдному артриті (РА) та анкілозивному спондилоартриті (АСА), які є провідними у структурі ревматичної патології й одними з найактуальніших медико-соціальних проблем сучасної цивілізації. Вивчення патогенетичних механізмів на мембранно-клітинному рівні — арені прояву більшості патофізіологічних змін, формують сучасне уявлення про сутність численних патофізіологічних процесів, зокрема, РА та АСА.

На сучасному етапі розвитку біології та медицини накопичено значну кількість даних стосовно цитоімуніологічних та фізіолого-біохімічних особливостей лімфоцитів. Дослідження ензиматичного спектру лімфоцитів широко використовується при вивченні аутоімунних, імунодифіцитних, лімфопроліферативних та інших захворюваннях. Проте, нез'ясованим залишається зміни йонного гомеостазу та внутрішньоклітинної сигналізації в лімфоцитах за умов розвитку ревматичної патології.

Мета дослідження полягає у вивченні дисфункції Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-ази та NO-синтази в сапонін-перфорованих лімфоцитах периферичної крові (ЛПК) у хворих на РА та АСА.

Матеріали і методи

За темою роботи проведено обстеження та лікування 22 хворих на РА (82 % жінки, 18 % чоловіки) та 17 хворих на АСА (32 % жінки, 68 % чоловіки), віком від 18 до 61 років (середній вік — 38 ± 2 років), які перебували на стаціонарному лікуванні у ревматологічному відділенні Львівської обласної клінічної лікарні. Контролю групу становили практично (клінічно) здорові донори, репрезентативні за віком та статтю ($n=15$). У дослідження включали осіб зі встановленим діагнозом РА або АСА без наявності супутніх запальних

захворювань сполучної тканини, інших запальних захворювань, онкологічної патології на момент початку дослідження.

Виділення лімфоцитів. Моноядерні ЛПК людини виділяли з гепаринізованої свіжоотриманої крові хворих і донорів у градієнті густини фікол-тріумбасту ($\rho = 1,08 \text{ г/см}^3$) [1]. Цілісність і життєздатність лімфоцитів, яка в усіх дослідах становила не менше 95 %, оцінювали за забарвленням трипановим синім [2]. Для пермеабілізації мембран ЛПК та розкриття латентних активностей Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-ази та NO-синтази до суспензії лімфоцитів додавали сапонін у концентрації 0,1–0,2 % [3].

Визначення Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної активності. АТР-гідролазну реакцію проводили при 37°C у середовищі інкубації наступного складу (мМ): 150 KCl, 0,05 CaCl_2 , 5 MgCl_2 , 5 АТР, 1 NaN_3 , 1 оуабаїн (інгібітор Na^+ , K^+ -АТР-ази), 20 Нерес-Трис-буфер (pH = 7,4). АТР-гідролазну реакцію ініціювали внесенням до інкубаційного середовища аліквоти лімфоцитарної суміші; кількість білка у пробі не перевищувала 50–100 мкг/мл. Вміст білка у лімфоцитарній суміші визначали методом Лоурі [4]. Тривалість інкубації — 5 хв. Реакцію зупиняли додаванням 1 мл охолодженого стоп-розчину наступного складу: 1,5 М натрій ацетат, 3,7 % формальдегід, 14 % етанол, 5 % ТХО.

У дослідах контролем на неензиматичний гідроліз АТР було стандартне середовище інкубації, яке не містило досліджуваної проби. Як контроль на кількість ендogenous фосфору в лімфоцитарній суміші використовували суспензію лімфоцитів у фізіологічному розчині. Кількість продукту реакції визначали за методом W. Rathbun, V. Betlach [5] і виражали у мкмоль P_i /хв·мг білка, вивільненого в процесі АТР-гідролазної реакції. Питому активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-аз лімфоцитів оцінювали як різницю між активністю АТР-азних систем у Ca^{2+} -вмісному та безкальцієвому середовищах. Для розділення сумарної Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної активності на тапсигаргін-нечутливу (PMCA) та тапсигаргін-чутливу клмпоненти (SERCA) до стандартного Ca^{2+} - та Mg^{2+} -вмісного середовища інкубації додавали селективний інгібітор Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-ази ЕПР — тапсигаргін (0,1 мМ).

Визначення NO-синтазої активності. Для тестування активності NO-синтази аліквоти пермеабілізованих сапоніном лімфоцитів (1,5 мл) інкубували в субстратній суміші наступного складу: трис-HCl — 0,08 М (pH 7,4), CaCl_2 — 10 мМ, L-аргінін — 0,15 мМ, NADPH(H^+) — 0,12 мМ. Контрольні та безсубстратні зразки (до яких субстрат не вводили) готували аналогічно до дослідних, але вони замість NADPH(H^+) та L-аргініну містили бідистильовану воду. Дослідні проби спектрофотометрували проти контрольних та безсубстратних зразків при 340 нм, після чого їх інкубували протягом 20 хв. при 37°C . Реакцію зупиняли внесенням до реакційного середовища HClO_4 (1,5 М). Активність NO-синтази виражали в наномолях окисненого NADPH(H^+)/хв на 1 мг загального протеїну у пробі [6].

Результати й обговорення

Для виконання складних функцій лімфоцитів у них повинна існувати досконала система регуляції та внутрішньоклітинної сигналізації та підтриманні клітинного гомеостазу. Йони Ca^{2+} мають фундаментальне значення у забезпеченні процесів внутрішньоклітинної сигналізації. Численні клітинні функції прямо чи опосередковано регулюються за участю змін концентрації Ca^{2+}_i [7, 8]. При цьому значення Ca^{2+}_i сигналу повинно бути чітко контрольованим у часі, у просторі і за амплітудою сигналу. Отже, прецизійний контроль концентрації Ca^{2+}_i в цитоплазмі як найважливіший елемент регуляції внутрішньоклітинних хімічних і фізико-хімічних реакцій та процесів є принципово значущим для забезпечення нормального функціонування клітин [8, 9].

У лімфоцитах зміни $[Ca^{2+}]_i$ асоціюються з численними клітинними процесами і реакціями, такими як активація клітинних кіназ і фосфатаз, регулювання цитоскелетних білків, контроль транскрипції, модуляція поверхневих рецепторів [10]. Підвищення $[Ca^{2+}]_i$ в Т-лімфоцитах при зв'язуванні Т-клітинного рецептора з чужорідним антигеном запускає транскрипційні процеси, які, в кінцевому результаті, ведуть до секреції ефекторних цитокінів і координації імунної відповіді [11]. Зниження рівня Ca^{2+}_i веде до ослаблення активації Т-лімфоцитів і до розвитку різних форм імунодефіциту [12, 13]. Імунологічна реактивність лімфоцитів пов'язана зі змінами Ca^{2+}_i [14].

Відомо, що контроль динаміки змін концентрації вільного Ca^{2+} у цитоплазмі зумовлюється суперпозицією функціонування Ca^{2+} -зв'язувальних білків, а також систем пасивного (Ca^{2+} канали) та активного (Ca^{2+} помпи та обмінники) транспортування цього катіону. Кальцієва помпа є системою енергозалежного транспортування йонів кальцію, роль якої виконує Ca^{2+} -активована, Mg^{2+} - залежна АТР-аза, яка здійснюється спряжений гідроліз АТР з транслокацією йонів Ca^{2+} крізь мембрану з цитозолу назовні (PMCA) або в цистерни ендоплазматичного ретикулуму (SERCA).

У результаті проведених досліджень встановлено, що Ca^{2+} , Mg^{2+} - АТФаза активність плазматичної мембрани і ендоплазматичного ретикулуму ЛПК у практично здорових осіб становить відповідно $3,06 \pm 0,42$ і $2,34 \pm 0,2$ мкмоль P_i /хв·мг білка. Активність Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-ази плазматичної мембрани ЛПК хворих на РА і АСА достовірно знижується на $56,3 \pm 2,8$ % і $66,9 \pm 4,2$ % ($P < 0,001$) у порівнянні з її величиною у практично здорових донорів і становить $1,72 \pm 0,08$ і $2,35 \pm 0,16$ мкмоль P_i /хв·мг білка відповідно (рис. 1). Відмічається також достовірне зниження Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної активності мембран ендоплазматичного ретикулуму ЛПК хворих на РА і АСА. Активність цього ензиму достовірно відрізняється у хворих на РА на $65,6 \pm 4,5$ %, а у хворих на АСА — на $86,3 \pm 7,5$ % ($P < 0,001$) у порівнянні з донорами і складає $1,53 \pm 0,1$ і $1,81 \pm 0,12$ мкмоль P_i /хв·мг білка відповідно.

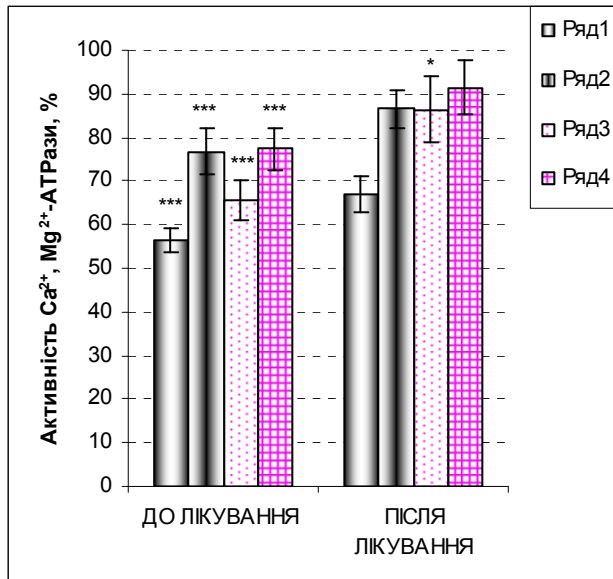


Рис. 1. Зміни Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної активності плазматичної мембрани (ряд 1, 2) і мембран ендоплазматичного ретикулуму (ряд 3, 4) ЛПК хворих на РА (ряд 1, 3) та АСА (ряд 2, 4) до та після лікування, % стосовно Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТР-азної активності у практично здорових донорів

Примітка: у ряді ДО ЛІКУВАННЯ Р стосовно величин у лімфоцитах в осіб групи контролю (практично здорові донори); У ряді ПІСЛЯ ЛІКУВАННЯ Р стосовно величин у лімфоцитах у хворих на момент поступлення у стаціонар. *** — $P < 0,001$, * — $P < 0,05$

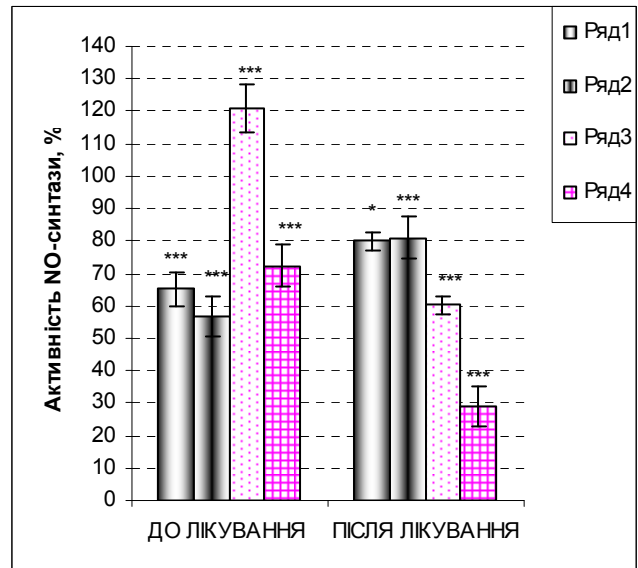


Рис. 2. Зміни eNO-синтазної (ряд 1, 2) та iNO-синтазної (ряд 3, 4) активності ЛПК хворих на РА (ряд 1, 3) та АСА (ряд 2, 4) до та після лікування, % стосовно загальної NO-синтазної активності у практично здорових донорів

Отримані експериментальні дані вказують на те, що зниження гідролазної активності PMCA і SERCA ЛПК має більш виражений характер у хворих на РА, ніж у хворих на АСА. Водночас, в хворих обох досліджуваних груп зниження ензиматичної активності PMCA має більш виражений характер, ніж у випадку SERCA. Пригнічення активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-ази свідчить про зростання концентрації йонів Ca^{2+} у цитозолі лімфоцитів. Іншими дослідниками отримано схожі результати. Показано інгібування ензиматичної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-ази плазматичної мембрани та зростання $[\text{Ca}^{2+}]_i$ у лімфоцитах крові щурів з модельованим артритом [15].

Синтаза оксиду азоту (NOS) — ензим, який каталізує утворення оксиду азоту (NO) і цитруліну з L-аргініну і молекулярного кисню за участю NADPH. Ензим може бути представлений у вигляді трьох ізоформ: nNOS, виявлена в нейрональних клітинах центральної і периферичної нервової системи; iNOS, яка, на відміну від nNOS і eNOS, не експресується постійно (конститутивно); синтез цього ензиму відбувається тільки при патологічних станах [16–18] і може бути індукований в клітинах різних типів; eNOS — вперше ідентифікована в клітинах ендотелію кровоносних судин, також локалізується в епітеліальних клітинах, гладких м'язках, тромбоцитах та Т-клітинах [19]. Активність eNOS та nNO-синтази залежить від $[\text{Ca}^{2+}]_i$. Їх наявність є необхідною для прояву активності eNOS та nNOS і не обов'язковою для індукцбельної ізоформи NO-синтази [20]. Збільшення продукції оксиду азоту відбувається пропорційно надходженню в цитоплазму йонів Ca^{2+} . Стимулюючими факторами входження Ca^{2+} у клітину і тим самим підвищуючи кальцієзалежну активність ензиму являються ацетилхолін, серотонін, глутамат, АДФ та інші біологічно активні речовини [21].

У результаті проведених досліджень встановлено, що активність NO-синтази ЛПК у практично здорових осіб становить $74,6 \pm 6,38$ нмоль NADFH(H^+)/хв·мг білка ($n=15$). Враховуючи те, що iNOS у нормі відсутня [22], можна стверджувати про загальна NO-синтазну активність, яка відповідає eNOS в ЛПК донорів. Опрацювання наукової літератури свідчить про значну варіабельність ензиматичної активності NO-синтази ЛПК, що може бути обумовлено різноманітними методологічними підходами до вивчення активності ензиму.

У хворих на РА і АСА активність eNOS ЛПК достовірно знижується від контрольної групи на $65,15 \pm 2,8$ % і $56,6 \pm 2,8$ % ($P < 0,001$) порівнянні з її величиною в осіб групи контролю і становить відповідно $48,6 \pm 8,32$ і $42,2 \pm 8,35$ нмоль NADFH(H^+)/хв·мг білка (рис. 2). Водночас, за умов розвитку ревматичної патології активується iNOS в ЛПК, яка зростає на $120,7 \pm 8,8$ % при РА і на $70,4 \pm 3,2$ % при АСА стосовно NOS у донорів. Відповідно при даних захворюваннях iNOS-активність складає $90,1 \pm 14,3$ і $54,2 \pm 7,22$ нмоль NADFH(H^+)/хв·мг білка. Оскільки великі дози NO токсичні для клітин, ця форма ензиму вважається паталогічною на відміну від конститутивних форм ензиму.

Отримані експериментальні дані вказують на те, що зниження eNOS-активності ЛПК має більш виражений характер у хворих на АСА, ніж у хворих на РА. Водночас, зростання ензиматичної активності iNOS має більш виражений характер у хворих на РА, ніж у хворих на АСА.

Досліджувані ензиматичні системи повторно визначали у хворих на РА та АСА після проведеного лікування у стаціонарі. Спостерігається наближення значень гідролазної активності Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТФ-ази та eNOS ЛПК хворих на РА та АСА до їх контрольних значень, що може свідчити про незначне відновлення у функціонального стану імункомпетентних клітин після проведеного лікування хворих у стаціонарі. Водночас, відмічається зниження активності iNOS (рис. 1, 2). Схожі результати отримано дослідниками раніше. Так, зокрема показано, що при розсіяному склерозі, енцефаломієліті, системному червоному вовчаку збільшується активність iNOS-клітин макрофагального ряду, котрі можуть чинити токсичну дію на клітини організму, спричинюючи їх ушкодження [23].

Висновки

Отримані результати вказують на порушення Ca^{2+} та NO сигналізації в ЛПК за умов розвитку ревматичної патології. Припускається, що стимуляція лімфоцитів антигенами запускає каскад енергетично-залежних процесів, які в кінцевому результаті ведуть до

перерозподілу макроергів у лімфоцитах з чим і можуть бути пов'язані зміни Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТП-азної активності. З іншої сторони, зростання Ca^{2+}_i цитозолі лімфоцитів веде до змін активностей eNOS, функціонування якої залежить від Ca^{2+}_i . Зміни eNO-синтазної активності ймовірно пов'язані зі змінами Ca^{2+} гомеостазу в ЛПК.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження кінетичних та каталітичних властивостей ензиматичних систем та їх співставлення зі змінами активності інших транспортувальних систем та ензимів метаболізму може мати значення в з'ясуванні механізмів ревматичних захворювань.

R. Fafula, U. Efremova, Z. Vorobets

STATE OF Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP-ase AND NO-SYNTHASE ENZYMATIC SYSTEM IN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS AND ANKYLOSING SPONDYLITIS

S u m m a r y

The analysis of the alterations of Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP-ase and NO-synthase enzymatic activities saponin-perforated peripheral blood lymphocytes of patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis was carried out.. It was shown the significant reduction of Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP-ase activity which is probably related to the **energy insufficiency** in patients with rheumatic pathology. We demonstrated the significant decrease in eNOS enzyme activity in patients with rheumatic diseases in comparison to the practically healthy donors. The iNOS enzyme activity of blood lymphocytes of patients with rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis increases. The dynamics of Ca^{2+} , Mg^{2+} -ATP-ase and NO-synthase enzymatic activities is observed after patient's treatment — enzyme activities approaches to their control values.

P. B. Фафула, У. П. Ефремова, З. Д. Воробець

СОСТОЯНИЕ Ca^{2+} , Mg^{2+} - АТП-азной И NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ В ЛИМФОЦИТАХ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ БОЛЬНЫХ РЕВМАТОИДНЫМ АРТРИТОМ И АНКИЛОЗИРУЮЩИМ СПОНДИЛОАРТРИТОМ

А н н о т а ц и я

Исследованы изменения Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТП-азной и NO-синтазной активности сапонин-перфорированных лимфоцитов периферической крови у больных ревматоидным артритом и анкилозирующим спондилоартритом. Показано достоверное снижение Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТП-азной активности, что вероятно связано с энергодефицитом в лимфоцитах в условиях развития ревматической патологии. Отмечается также достоверное снижение энзиматической активности эндотелиальной NO-синтазы в лимфоцитах периферической крови больных ревматоидным артритом и анкилозирующим спондилоартритом. Вместе, активность индуцибельной NO-синтазы в условиях развития ревматической патологии достоверно возрастает. Исследуемые энзиматические системы повторно определяли у больных РА и АСА после проведенного лечения в стационаре. Наблюдается приближение значений активности Ca^{2+} , Mg^{2+} -АТП-азы и eNOS к их контрольных значений, что может свидетельствовать о незначительное восстановление в функционального состояния иммунокомпетентных клеток после проведенного лечения больных в стационаре.

1. *Boyum A.* Isolation of mononuclear cells and granulocytes from human blood / A. Boyum // Scand. J. Clin. Lab. Invest. — 1968. — V. 21 (Supp. 97). — P. 77–79.

2. *Mishell B. B.* Selected Methods in Cellular Immunology / B. B. Mishell, S. M. Shiigi. — San Francisco : W. H. Freeman and Company, 1980. — P. 486.

3. *Підковка Н. О.* Дослідження деяких властивостей АТФаз у лімфоцитах крові людини / Н. О. Підковка, З. Д. Воробець, А. Б. Зіменковський // Експерим. та клін. фізіологія і біохімія. — 2002. — Т. 7, № 1. — С. 38–41.

4. *Lowry O. H.* Protein measurement with the Folin phenolreagent / O. H. Lowry, N. J. Rosebrough, A. L. Farr et al. // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265–275.

5. Rathbun W. Estimation of enzymically produced orthophosphate in the presence of cysteine and adenosine triphosphate / W. Rathbun, V. Betlach // *Anal. Biochem.* — 1969. — V. 28. — P. 436–447.

6. Сагач В. Вплив L-аргініну на функціональну активність ендотелію за умов експериментального цукрового діабету / В. Сагач, О. Присяжна, М. Ткаченко, А. Коцюруба // *Фізіол. журн.* — 2005. — Т. 51, № 2. — С. 3–7.

7. Lee C-H. Ca^{2+} oscillations, gradients, and homeostasis in vascular smooth muscle // C.-H. Lee, D. Poburko, K.-H. Kuo et al. // *Amer. J. Physiol. Heart and Circulatory Physiology.* — 2002. — V. 282., N 5. — P. H1571–H1583.

8. Missiaen L. Abnormal intracellular Ca^{2+} homeostasis and disease / L. Missiaen, W. Robberecht, L. Van Den Bosch et al. // *Cell Calcium.* — 2000. — V. 28, N 1. — P. 1–27.

9. Szabadkai G. Participation of endoplasmic reticulum and mitochondrial calcium handling in apoptosis: more than just neighborhood? / G. Szabadkai, R. Rizzuto // *FEBS Lett.* — 2004. — V. 567, №1. — P. 111–115.

10. Revankar C. Altered Ca^{2+} homeostasis in polymorphonuclear leukocytes from chronic myeloid leukaemia patients / C. M. Revankar, S. H. Advani, N. R. Naik // *Mol. Cancer.* — 2006. — V. 275. — P. 55–65.

11. Dolmetsch R. Differential activation of transcription factors induced by Ca^{2+} response amplitude and duration / R. E. Dolmetsch, R. S Lewis, C. C. Goodnow et al. // *Nature.* — 1997. — V. 386. — P. 855–858.

12. Feske S. A mutation in Orail causes immune deficiency by abrogating CRAC channel function / S. Feske, Y. Gwack, M. Prakria et al. // *Nature.* — 2006. — V. 441. — P. 179–185.

13. Gwack Y. Signalling to transcription: store-operated Ca^{2+} entry and NFAT activation in lymphocytes / Y. Gwack, S. Feske, S. Srikanth // *Cell Calcium.* — 2007. — V. 42. — P. 145–156.

14. Guse A. H. Ca^{2+} signalling in the T-lymphocytes / A. H. Guse // *Crit. Rev. Immunol.* — 1998. — V. 18. — P. 419–448.

15. Selvam R. Low frequency and low intensity pulsed electromagnetic field exerts its antiinflammatory effect through restoration of plasma membrane calcium ATPase activity / R. Selvam, K. Ganesan, R. Narayana Raju et al. // *Life Sci.* — 2007. — Vol. 80, N. 26. — P. 2403–2410.

16. Горпен А. К. Универсальная и комплексная энзимология синтазы оксида азота / А. Горпен, Б. Майер // *Биохимия.* — 1998. — Т. 63, № 7. — С. 870–880.

17. Манухина Е. Б. Роль окиси азота в сердечно-сосудистой патологии: взгляд патофизиолога / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев // *Рос. Кардиол. Журн.* — 2000. — № 5. — С. 55–63.

18. Манухина Е. Б. Оксид азота в сердечно-сосудистой системе: роль в адаптационной защите / Е. Б. Манухина, И. Ю. Малышев, Ю. В. Архипенко // *Вестн. Рос. АМН.* — 2000. — № 4. — С. 16–21.

19. Скляр О. Я. Роль NOS-синтазної системи та процесів ліпопероксидації в цитопротекторних механізмах за умов ульцерогенного коліту / О. Я. Скляр, Н. Б. Панасюк, О. Р. Джура // *Експ. та клін. фізіол. і біохімія.* — 2009. — № 1. — С. 38–44.

20. Persechini A. Different Mechanisms for Ca^{2+} Dissociation from Complexes of Calmodulin with Nitric Oxide Synthase or Myosin Light Chain Kinase / A. Persechini, H. White, K. Gansz // *J. Biol. Chem.* — 1996. — V. 271. — P. 62–67.

21. Moncada S. Nitric oxide: physiology, pathology and pharmacology / S. Moncada // *Pharmac. Rev.* — 1991. — V. 43. — P. 109–142.

22. Костокрыз В. Б. Особенности метаболизма оксида азота у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемической этиологии с имплантированным электрокардиостимулятором: возможности медикаментозной коррекции блокаторами бета-адренорецепторов / В. Б. Костокрыз, Т. В. Туровская // *Укр. мед. часопис.* — 2010. — № 5 (79). — С. 81–84.

23. Лановенко І. І. Оксид азоту — універсальний регулятор клітинних функцій / І. І. Лановенко // *Гематологія і переливання крові.* — 2008. — № 2, Вип. 34. — С. 227–234.

Рецензент: докторант, кандидат сільськогосподарських наук, с. н. с. Гавриляк В. В.