

DOI: 10.7868/S0869813918070080

**ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ
ПИЩЕВАРИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И СОДЕРЖАНИЯ
ДЕПОНИРОВАННОГО ОКСИДА АЗОТА
В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПЕТУШКОВ ПОСЛЕ КОРМЛЕНИЯ**

© В. И. Фисинин, В. Г. Вертипрахов, В. Ю. Титов, А. А. Грозина

НЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт
птицеводства» РАН, Сергиев Посад, Россия
E-mail: Vertiprakhov63@mail.ru

Исследовано влияние кормления на активность пищеварительных ферментов и содержание универсального клеточного медиатора оксида азота в плазме крови петушков породы Леггорн. Показано, что увеличение активности трипсина в крови, наблюдаемое после приема корма, сопровождается повышением концентрации доноров оксида азота, о которых судили по содержанию $Fe(NO)_n$ в крови, в несколько раз. Снижение активности трипсина, наблюдаемое через 3 ч после приема корма, сопровождается снижением содержания $Fe(NO)_n$. Увеличение активности трипсина, таким образом, тесно коррелирует с содержанием депонированного NO в крови. Возможный механизм этой взаимосвязи обсуждается.

Ключевые слова: пищеварительные ферменты крови, трипсин, оксид азота.

Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. Т. 104. № 8. С. 976—983. 2018

V. I. Fisinin, V. G. Vertiprakhov, V. Yu. Titov, A. A. Grozina THE POSTPRANDIAL DYNAMICS OF ACTIVITY OF THE DIGESTIVE ENZYMES AND CONCENTRATION OF DEPOT OF NITRIC OXIDE IN BLOOD SERUM OF COCKERELS. All-Russian Research and Technological Institute of Poultry of the RAS, Sergiev Posad, Russia; e-mail:Vertiprakhov63@mail.ru.

The effects of feeding on the activities of the digestive enzymes and concentration of nitric oxide (NO, a universal cell mediator) in blood serum of White Leghorn cockerels were studied. The postprandial increase in tryptic activity in serum was found to be accompanied by the several-fold increase in serum concentration of NO donors. The significant reduction in the tryptic activity in 3 hours after the feeding was accompanied by the reduction in the concentration of NO donors. A presumptive mechanism of this tight correlation between the serum tryptic activity and concentration of NO donors is discussed.

Key words: digestive enzymes in blood serum, trypsin, nitric oxide (NO).

RUSSIAN JOURNAL OF PHYSIOLOGY. V. 104. N 8. P. 976—983. 2018

Традиционная точка зрения на кишечное пищеварение заключается в том, что в ответ на каждый прием корма поджелудочная железа синтезирует и выделяет в тонкий отдел кишечника совершенно новую порцию пищеварительных ферментов. Необходимость синтеза пищеварительных ферментов обусловлена тем, что ферменты после взаимодействия с субстратом корма могут гидролизироваться и частично удаляться с экскрементами. Однако экспериментально доказано, что пищеварительные ферменты могут всасываться в кровоток, поступать с кровью в поджелудочную железу и секретироваться в кишечник повторно [3, 17]. В настоящее время наличие ферментов в крови не вызывает сомнений, но их физиологическая роль в крови полностью не изучена. В этой связи интересна гипотеза J. C. Laporte, J. Tremolieres [14]. Они показали, что поступление трипсина в кровь вызывает у крыс уменьшение выхода ферментов с панкреатическим соком, тогда как введение ингибитора трипсина, напротив, сопровождается увеличением выделения ферментов. Кроме того, было обнаружено, что панкреозимин *in vitro* ведет себя как сильный ингибитор трипсина. Учитывая все это и ряд других наблюдений, эти авторы сформулировали оригинальную концепцию гормональной регуляции секреции ферментов в поджелудочной железе. Согласно этой гипотезе, исходным состоянием поджелудочной железы является покой, а не секреторная активность. Трипсин поступает в активном виде в кровеносное русло и, достигнув в крови определенного уровня, по принципу обратной связи тормозит дальнейшую секрецию, приводя железу в состояние функционального покоя. Панкреозимин, выделяющийся после приема корма слизистой оболочкой кишечника, инактивирует трипсин в крови, устраняя его угнетающее действие на ацинарный аппарат поджелудочной железы, возвращая ее в состояние функциональной активности.

Нами в опытах на курах и цыплятах-бройлерах с фистулой панкреатического протока показана динамика выделения ферментов поджелудочной железы после приема корма [19, 20]. Результаты исследований свидетельствуют, что протеазы в панкреатическом соке достигают максимальной активности через 60—90 мин после приема корма. Известно, что активность пищеварительных ферментов в дуоденальном содержимом тесно связана с активностью амилазы, липазы и трипсина в крови у кур [10, 11]. Это дает возможность судить о состоянии здоровья и адаптации к уровню питания внешнесекреторной функции поджелудочной железы по активности панкреатических ферментов в крови [12].

Многочисленными исследованиями установлено [1, 5] что активация пищеварения связана с возбуждением парасимпатической нервной системы. Считается также, что эффекты ацетилхолина — медиатора парасимпатической нервной системы — опосредуются оксидом азота: ацетилхолин активирует NO-синтазу [16]. Также трипсин в крови может непосредственно воздействовать на эндотелий сосудов, где содержится эндотелий-зависимая NO-синтаза (e-NOS) [16]. Известно, что NO — короткоживущее соединение. Время его полужизни в живых тканях — от долей до нескольких секунд. В живых системах синтезируются нитрозотиолы (RSNO), динитрозильные комплексы железа (ДНКЖ), а также способные в них трансформироваться высокомолекулярные нитросоединения (RNO₂). Эти соединения рассматриваются как физиологические депо (доноры) NO, продлевающие его физиологическое время жизни и опосредующие взаимодействие с мишенью [17, 19]. Общую концентрацию этих соединений и нитрата — конечного продукта окисления NO в живых тканях, можно рассматривать как показатель интенсивности синтеза NO, а соотношение нитрат: доноры NO — как показатель интенсивности окисления NO [8].

Целью исследования явилось изучение активности пищеварительных ферментов в крови, показателей интенсивности синтеза NO и окисления его до нитрата в крови кур после приема корма. В связи с этим представляет интерес определение корреляции между активностью пищеварительных ферментов в крови и содержания в ней метаболитов оксида азота. В случае обнаружения тесной корреляции этих показателей может появиться возможность влияния извне на активность ферментов поджелудочной железы.

МЕТОДИКА

Объектом исследования служили 5 петушков породы Леггорн в возрасте 90—120 суток СГЦ «Загорское ЭПХ» — филиал ФНЦ «ВНИТИП» РАН. Птицы содержались в виварии ФНЦ «ВНИТИП» РАН, кормление осуществлялось в соответствии с зоотехническими нормами [6]. Взятие крови производилось в состоянии натошак после 16-часового голодания, а также через 30, 60 и 180 мин после дачи корма — 30 г комбикорма на голову. Каждый временной интервал изучали в отдельной серии опытов. Выполнено 5 повторов с интервалом в несколько дней.

Биохимические исследования активности пищеварительных ферментов в крови. Кровь брали из подкрыльцовой вены в объеме 2—3 мл. В качестве антикоагулянта использовался 3.8 %-ный раствор цитрата натрия в объемном соотношении с пробой крови 1:10. Пробу центрифугировали при 5000 об./мин в течение 5 мин для отделения плазмы от форменных элементов.

Активность трипсина в плазме крови изучали, используя в качестве субстрата нитроанилид-бензоил DL-аргинин (BAPNA), на полуавтоматическом биохимическом анализаторе BS3000P (КНР) кинетическим методом [15]. Активность амилазы и липазы в плазме крови определяли на биохимическом автоматическом анализаторе Chem well 2900 (T) (Awareness Technology, США) с использованием соответствующих наборов реагентов Human GmbH (Германия). Для определения панкреатической амилазы 200 мкл буферного раствора pH 7.15 из соответствующего набора смешивали с 4.0 мкл плазмы крови и инкубировали при температуре 37 °С в течение 3 мин. Затем добавляли субстрат pH 7.15 из набора реактивов в количестве 50 мкл и инкубировали в течение 2 мин, после чего считали оптическую плотность (absorbance) с использованием фильтра 405 нм через 1, 2 и 3 мин и вычисляли среднее значение $\Delta A/\text{мин}$.

Для определения липазы 200 мкл буферного раствора pH 8.0 из набора реактивов смешивали с 4.0 мкл плазмы крови и инкубировали при температуре 37 °С в течение 5 мин. Затем добавляли субстрат pH 4.0 из прилагаемого набора в количестве 50 мкл и инкубировали в течение 2 мин, после чего считали оптическую плотность (absorbance) с использованием фильтра 580 нм через 1 и 2 мин и вычисляли среднее значение $\Delta A/\text{мин}$.

Определение содержания доноров NO и нитрата. Для определения содержания доноров NO и нитрата использовали ферментный сенсор [7]. Он основан на уникальной способности всех нитрозосоединений ингибировать каталазу в присутствии галоид-ионов с примерно равной эффективностью. Другие известные ингибиторы каталазы не обладают такой особенностью и в норме не встречаются в биообъектах в концентрациях, способных привести артефакты. Динитрозильные комплексы железа, содержащие тиолатные лиганды (ДНКЖ/SH), теряют ингибирующую способность в среде, содержащей хелатор железа (о-фенантролин, ЭДТА) и ловушку NO (гемоглобин), перехва-

тывающую высвобождающийся из комплекса оксид азота. S-нитрозотиолы (RSNO) определялись как соединения, трансформирующиеся в ДНКЖ/SH под воздействием закисного железа и тиолов и приобретающие их свойства. Нитрит (NO_2^-) и нитрозоамины (RNNO) практически не продуцируют ДНКЖ/SH в нейтральной среде и сохраняют ингибирующие способности при последовательном добавлении закисного железа, глутатиона, ловушки NO-гемоглобина и хелатора железа. Нитрозильные комплексы железа, не содержащие тиолы $[\text{Fe}(\text{NO})_n]$, определялись как соединения, приобретающие свойства (ДНКЖ/SH) после добавления глутатиона в реакционную среду [7, 9]. Высокомолекулярные нитраты (RNO₂) определялись как соединения, приобретающие ингибирующие свойства ДНКЖ/SH под воздействием закисного железа и глутатиона [7]. Для определения общего пула нитросоединений использовалась их способность восстанавливаться треххлористым ванадием до нитрозосостояния и приобретать способность ингибировать каталазу. Метод не нуждается в какой-либо предварительной подготовке образца. Чувствительность метода — 40нМ [7].

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов исследований выполняли, используя компьютерную программу Excel, достоверность результатов определяли при помощи таблиц Стьюдента, разница считалась достоверной при $p < 0.05$.

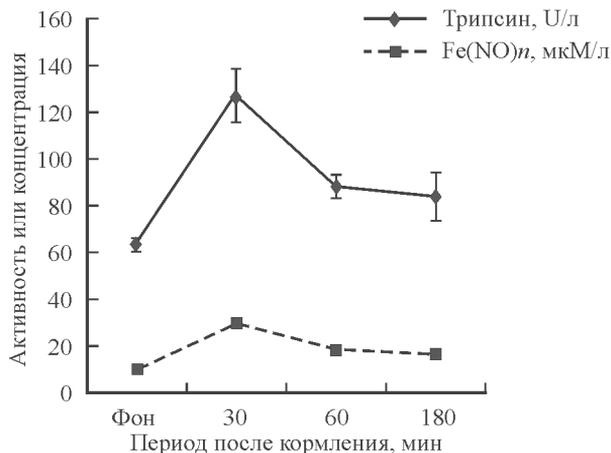
РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Результаты исследования, представленные в таблице, показывают, что после приема корма наиболее существенные изменения происходят в активности трипсина. Активность амилазы и липазы в плазме крови после приема корма достоверно не изменяется. Причем интервал после приема корма имеет значение: наибольшее увеличение активности трипсина в крови отмечается через 30 и 60 мин после приема корма (на 66.0—67.1 %) по сравнению с фоновым уровнем активности. Через 180 мин после приема корма активность трипсина в крови снижается на 24.8 % по сравнению с показателем после 30-минутного воздействия корма на пищеварительную систему птицы (см. рисунок).

Активность пищеварительных ферментов (У/л) и показатели $\text{Fe}(\text{NO})_n$ (мкМ/л) в крови петушков до и после приема корма ($M \pm m$, $n = 20$)

Показатель	Трипсин, У/л	Амилаза, У/л	Липаза, У/л	$\text{Fe}(\text{NO})_n$, мкМ/л
До кормления	76 ± 2.3	277 ± 55.1	14 ± 0.8	11.8 ± 0.8
Через 30 мин после приема корма	127 ± 11.4	337 ± 55.1	12 ± 0.6	29.8 ± 2.0
Процент к фону	167.1*	121.7	85.7	252.5*
До кормления	53 ± 2.8	278 ± 19.1	19 ± 1.2	10 ± 0.8
Через 60 мин после приема корма	8 ± 4.6	270 ± 24.8	18 ± 1.7	18.6 ± 1.9
Процент к фону	166.0*	97.1	94.7	184.4*
До кормления	59 ± 3.3	324 ± 55.4	16 ± 0.9	12.4 ± 1.2
Через 180 мин после приема корма	84 ± 9.6	477 ± 123.1	14 ± 1.3	17.2 ± 1.8
Процент к фону	142.3	147.2	87.5	138.7*

Примечание. * Разница между до и после кормления достоверна, $p < 0,05$.



Динамика активности трипсина и содержание Fe(NO)n после приема корма у петушков.

По оси абсцисс — период после кормления, мин; по оси ординат — единицы активности трипсина (U/L) и Fe(NO)n, мкМ/л. Сплошная линия — динамика активности трипсина, пунктиром — содержание Fe(NO)n.

Доноры оксида азота в плазме кур представлены соединениями типа Fe(NO)n. Ими представлен весь пул нитрозосоединений в крови кур. Количество нитрозотиолов (RSNO), динитрозильных комплексов железа, содержащих тиолатные лиганды (ДНКЖ/RSH), а также высокомолекулярных нитратов, способных трансформироваться в ДНКЖ/RSH, не превышало 100 нМ. Содержание нитрита и RNNO также не превышало 100 нМ.

Содержание Fe(NO)n в плазме крови петушков во всех случаях увеличилось после кормления. Максимального значения повышение их содержания по сравнению с исходным уровнем наблюдалось через 30 мин после приема корма (на 52.5 %). В дальнейшем наблюдалось снижение этого показателя соответственно до 84.4 и 38.7 % по сравнению с исходной величиной через 60 и 180 мин (см. рисунок).

Концентрация нитрата в плазме существенно не различалась до и после кормления и составляла 80—90 мкМ.

Таким образом, прием корма достоверно повышает активность трипсина и содержание доноров NO в плазме крови петушков максимально через 30 мин после кормления, а затем постепенно показатели снижаются, приближаясь через 180 мин после приема корма к исходному уровню.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Прием корма у птиц является мощным стимулятором секреции панкреатического сока и ферментов [1, 20], причем регуляция в начальной стадии обеспечивается сложнорефлекторной фазой с участием парасимпатической нервной системы посредством блуждающего нерва. Поскольку корм в этот период накапливается в зобе у кур или желудке у животных с однокамерным желудком, то ферменты, выделяясь с панкреатическим соком в двенадцатиперстную кишку, благодаря энтеропанкреатической циркуляции проникают в кровяное русло [18]. Результаты показывают, что трипсин в крови является одним из наиболее мобильных пищеварительных ферментов, активность которого в отличие от амилазы и липазы в постпрандиальную, стимулированную приемом пищи,

фазу изменяется. Повышение уровня трипсина в крови мы наблюдали спустя 30 мин после кормления (см. таблицу). В этот период в кишечник начинают поступать небольшими порциями обработанные желудочным соком, измельченные кормовые массы из полости желудка. В слизистой оболочке кишечника в ответ на раздражение рецепторов кислым желудочным содержимым начинает выделяться и всасываться в кровь гормон панкреозимин (холецистокинин), который, поскольку является ингибитором трипсина, связывается с ним в кровяном русле. Известно, что в крови находятся другие ингибиторы трипсина, главным из которых считается антитрипсин (занимает по объему второе положение после альбуминов в крови). Однако, согласно последним данным литературы, название ингибитора не соответствует действительности, поскольку основным субстратом данного ингибитора являются протеазы лейкоцитов крови [2]. Результаты исследований содержания антитрипсина в крови кур показали, что трипсин и антитрипсин не имеют корреляции в плазме крови цыплят разного возраста, при разной активности протеолитических ферментов в кишечнике с использованием биологически активных добавок и различных по питательности кормов [11]. Следовательно, панкреозимин параллельно (возможно, и вместе в качестве транспортных молекул) с трипсином поступает в кровяное русло, поскольку уровень пептида, который является одним из ключевых гормональных пептидов [4], регулирующих функции системы пищеварения, по мере продвижения по пищеварительному тракту уменьшается. Концентрации холецистокинина-панкреозимина (ХКП) в дуоденальной слизистой оболочке колеблются от 150 до 250 пмоль/г ткани, в слизистой оболочке тощей кишки — 120—170 пмоль/г, подвздошной — не более 40 пмоль/г [13]. Согласно гипотезе J. C. Laporte, J. Tremolieres [14], поджелудочная железа переходит в состояние покоя за счет ингибирования ее функции трипсином, попавшим в кровь в период ее высокой функциональной активности. Панкреозимин, являющийся ингибитором трипсина, нейтрализует фермент в крови и его ингибирующее действие на активность желез. Поэтому активность трипсина в крови следует рассматривать в качестве одного из регуляторов панкреатической секреции. Можно предположить, что чем больше раздражаются вкусовые рецепторы в ротовой полости пищей, тем сильнее возбуждается парасимпатическая система и в кишечник выделяется больше панкреатического сока, содержащего трипсиноген, который в двенадцатиперстной кишке переходит в активный трипсин. Увеличение белкового субстрата в кишке приводит к еще большему выделению с панкреатическим соком трипсиногена, который после активирования и гидролиза пептидов в тонком отделе кишечника всасывается в кровь. Увеличение в крови содержания соединения-донора NO может быть результатом как активации парасимпатической нервной системы, так и непосредственного воздействия трипсина в крови на эндотелий сосудов. В первом случае появление соединений-доноров NO стимулирует продукцию трипсина поджелудочной железой, а во втором — наоборот. Пока мы не можем ответить на вопрос, какой механизм преобладает. Заметим, что содержание нитрита и RNNO во всех случаях не превышало 100 нМ и не увеличивались после кормления. Это указывает на то, что какой-то значительной активации лейкоцитов в этом процессе не происходит, поскольку последняя сопряжена с активацией НАДФН-оксидазного комплекса, что в свою очередь ведет к продукции супероксидного аниона-радикала и образованию нитрита и RNNO [23].

Но очевидно, что в показателях увеличения активности трипсина в крови и содержания доноров NO явно наблюдается тесная взаимосвязь, поскольку имеют место схожие временные характеристики (см. рисунок). Активность

трипсина в крови увеличивается максимально через 30 мин после приема корма, после чего снижается. Параллельно изменяется в плазме крови содержание доноров NO.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

После приема корма в крови существенные изменения происходят в активности трипсина, активность амилазы и липазы не имеет достоверных изменений. Наибольшее увеличение активности трипсина отмечается на 30-й и 60-й минутах после приема корма, через 180 мин после кормления активность трипсина в крови птицы превышает базальный уровень на 25 %.

Содержание депонированного оксида азота в плазме крови петушков увеличивается после кормления, достигая максимального уровня через 30 мин после приема корма. В дальнейшем (через 60 и 180 мин) наблюдается снижение данного показателя в крови. Содержание нитрата в плазме крови существенно не различается до и после кормления.

Работа выполнена при финансовой поддержке подпрограммы «Изучение механизмов адаптации системы пищеварения млекопитающих животных и птицы к рационам с различным ингредиентным составом кормов» в соответствии с Программой фундаментальных исследований РАН (постановление президиума РАН № 132 от 05.07.2017).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- [1] *Батоев Ц. Ж.* Физиология пищеварения птиц. Улан-Удэ. 2001.
- [2] *Белов А. А., Белова Л. А., Филатов В. Н., Белова Е. Н., Донских Г. Н., Горбунова М. Н.* Взаимодействие ингибиторов протеиназ плазмы крови с иммобилизованным на диальдегидцеллюлозе протеолитическим комплексом из гепатопанкреаса краба. Вестн. МГУ. Серия 2. Химия. 44 (1): 16—19. 2003.
- [3] *Коротько Г. Ф.* Формирование ферментного компонента секретов пищеварительных желез (обзор). Физическая культура, спорт — наука и практика. 1: 51—57. 2013.
- [4] *Климов П. К., Фокина А. А.* Физиология поджелудочной железы. Регуляция внешнесекреторной функции. Л. Наука. 1987.
- [5] *Павлов И. П.* Лекции о работе главных пищеварительных желез. Полн. собр. соч. М., Л. 2 (2): 11—215. 1951.
- [6] *Руководство по оптимизации рецептов комбикормов для сельскохозяйственной птицы.* Ред. Фисинин В. И., Егоров И. А., Ленкова Т. Н., Сергиев Посад. 2014.
- [7] *Титов В. Ю., Петренко Ю. М., Ванин А. Ф., Степура И. И.* Определение нитрита и нитрозосоединений в биосистемах калориметрическим методом. Биофизика. 55 (1): 95—106. 2010.
- [8] *Титов В. Ю., Иванова А. В., Петров В. А., Сереженков В. А., Микоян В. Д., Ванин А. Ф., Осипов А. Н.* Может ли суммарное содержание нитрита и нитрата служить показателем интенсивности синтеза окиси азота (NO) в тканях организма? Бюл. эксперим. биологии, и медицины. 153 (6): 816—819. 2012.
- [9] *Титов В. Ю., Долгорукова А. М., Петров В. А., Осипов А. Н.* Предполагаемый механизм избирательности физиологического действия оксида азота. Бюл. эксперим. биологии и медицины. 163 (6): 691—695. 2017.
- [10] *Фисинин В. И., Вертипрахов В. Г., Грозина А. А., Свиткин В. С.* Методы изучения кишечного пищеварения у сельскохозяйственной птицы. Вестн. рос. с.-х. науки. 5: 25—27. 2017.
- [11] *Фисинин В. И., Егоров И. А., Вертипрахов В. Г., Грозина А. А., Ленкова Т. Н., Манукян В. А., Егорова Т. А.* Активность пищеварительных ферментов в дуоденальном

химусе и плазме крови у исходных линий и гибридов мясных кур при использовании биологически активных добавок в рационе. Сельскохозяйств. биология. 52 (6): 1226—1333. 2017. doi: 10.15389/agrobiology.2017.6.1226rus

[12] *Фисинин В. И., Вертипрахов В. Г., Грозина А. А.* Новые подходы к оценке функции пищеварения у кур. Рос. с.-х. наука. 1: 49—53. 2018.

[13] <http://meduniver.com/Medical/Physiology/2171.html> электронный ресурс.

[14] *Laporte J. C., Tremolieres J.* Regulation hormonale de la sécrétion enzymatique du pancréas exocrine. Comptes rendus de l'Académie des Sciences, ser. D. 273: 1205—1207. 1971.

[15] *Mikhailova A. G., Khairullin R. F., Rumsh L. D., Demidyuk I. V., Kostrov S. V., Grinberg N. V., Burova T. V., Grinberg V. Y.* Cloning, sequencing, expression, and characterization of thermostability of oligopeptidase B from *Serratia proteamaculans*, a novel psychrophilic protease. Protein Expres. Purificat. 93: 63—76. 2014. doi: 10.1016/j.pep.2013.10.011

[16] *Moncada S., Palmer R., Higgs E.* Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. Pharm. Rev. 43 (2): 109—142. 1991.

[17] *Rassaf T., Preik M., Kleinbongard P., Lauer T., He Ch., Strauer B.-E., Feelisch M., Kelm M.* Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma. J. Clin. Invest. 109 (9): 1241—1248. 2002.

[18] *Rothman S., Leibow C., Isenman L.* Conservation of digestive enzymes. Physiol. Rev. 82: 1—18. 2002. <https://doi.org/10.1152/physrev.00022.2001>

[19] *Vanin A.* Dinitrosyl iron complexes with thiolate ligands: Physico-chemistry, biochemistry and physiology. Nitric Oxide. 21: 1—13. 2009.

[20] *Vertiprakhov V. G., Egorov I. A.* The influence of feed Intace and conditioned reflex on exocrine pancreatic function in broiler chicks. Open J. Animal Sci. 6 (4): 298—303. 2016.

[21] *Vertiprakhov V. G., Svitkin V. S.* Effects of poorly hydrolysable ingredients in mixed feeds on pancreatic exocrine function in chickens. Russ. Agricult. Sci. 43: 173—176. 2017. doi:10.3103/S1068367417020215

[22] *Vertiprakhov V. G., Grozina A. A., Egorov I. A., Lenkova T. N., Manukyan V. A., Egorova T. A.* On the activities of pancreatic proteases and alpha-1 proteinase inhibitor in meat-type chicken. Open J. Animal Sci. 7 (3): 289—296. 2017.

[23] *Titov V., Osipov A., Kreinina M., Vanin A.* Features of metabolism of nitric oxide in normal state and inflammation. Biophysics. 58: 676—688. 2013.

Поступила 6 II 2018
После доработки 17 V 2018