

І.М. Алексєєва, Т.М. Бризгіна, Л.І. Алексюк, Т.В. Мартинова, В.С. Сухіна

Роль оксиду азоту в розвитку гуморальної імунної відповіді у мишей

У мишей лини СВА вызывали иммунный ответ введением эритроцитов барана. На 1, 5, 14-е сутки определяли количество антителообразующих клеток в селезенке, а также продукцию оксида азота (NO), кислородзависимый метаболизм и активность 5'-нуклеотидазы макрофагов и лимфоцитов перитонеального экссудата. Показано, что в индуктивную фазу иммунного ответа (1 сут) увеличивалась продукция NO клетками перитонеального экссудата, а в последующие сроки при нормализации содержания NO увеличивалась и их функциональная активность. Применение блокаторов NO-синтаз (неселективного L-NNA и блокаторов iNOS – SMT и дексаметазона) приводило к повышению интенсивности иммунного ответа и снижению функциональной активности макрофагов. Применение донатора NO нитропрусида натрия вызывало обратную реакцию – снижение интенсивности иммунного ответа и повышение функциональной активности клеток перитонеального экссудата. Полученные результаты свидетельствуют об участии NO в регуляции иммунного ответа, опосредованной, в частности, супрессорной функцией макрофагов.

ВСТУП

Оксид азоту (NO) відноситься до ендогенних регуляторів клітинних функцій з широким спектром дії. Він може бути переносником сигналу, регулятором метаболізму, а також токсичним агентом. В імунній системі NO генерується активованими макрофагами, лімфоцитами, моноцитами з L-аргініну за допомогою індукцибельної NO-синтази – iNOS [3, 5, 21, 22], синтез якої ініціюється цитокінами, ендотоксинами та іншими біологічно активними речовинами [7, 10]. Показано, що під впливом цих стимулів посилюється синтез NO внаслідок експресії гена, відповідального за цей процес [1]. В імунних реакціях NO може виступати в ролі як імунорегуляторної молекули, так і токсичного агента. Саме як токсичний агент, що утворюється в макрофагах і нейтрофілах, він бере участь у захисті організму від інфекційних агентів [20, 30]. За літературними даними [29] NO інгібує реплікацію вірусу герпесу в клітинах.

Є відомості про участь NO в розвитку імунної патології органів, зокрема гломерулонефриту [17, 18], феномена Артюса [26], імунокомплексного васкуліту [23]. Хоча в разі алергічного енцефаломієліту інгібітор NO-синтази сприяє поліпшенню його проходження [24]. NO сприяє відторгненню алотрансплантата підшлункової залози у щурів [28]. Показана локалізація iNOS на клітинах запалення, що інфільтрують алотрансплантат [31]. Участь NO в розвитку гуморальних імунних реакцій вивчена недостатньо. Серед багатьох ланок гуморальної імунної відповіді макрофаги займають важливе місце. Їх функція полягає в презентації антигена Т-хелперам, синтезі медіаторів міжклітинних взаємодій – цитокінів, які здійснюють позитивну чи негативну імунорегуляцію. Є дані про те, що інтерлейкіни (IL-1 і IL-6), які секретуються активованими макрофагами, індують IL-2-рецептор на Т-клітинах і підсилюють продукцію антитіл В-клітинами [12],

© І.М. Алексєєва, Т.М. Бризгіна, Л.І. Алексюк, Т.В. Мартинова, В.С. Сухіна

а простагландин E2 і пухлинний фактор росту, що ним виділяється, чинить негативний вплив на імунну відповідь [15]. Показано, що в системі *in vitro* макрофаги, оброблені IL-6, знижують продукцію анти-тіл мишачими спленоцитами, імунізованими тринітрофеніловими похідними гемоціаніну, саме через продукцію NO [25].

Метою наших досліджень було вивчення ролі NO в розвитку гуморальної імунної відповіді мишей на еритроцити барана та у змінах функціональної активності імунокомпетентних клітин перитонеального ексудату, зокрема макрофагів, за даними киснезалежного метаболізму та активності 5'-нуклеотидази.

МЕТОДИКА

Досліди проведені на мишах лінії СВА обох статей масою 18–22 г. Участь NO оцінювали за даними його продукції імунокомпетентними клітинами, а також за ефектами застосування донора NO та блокаторів NO-синтаз. Гуморальну імунну відповідь викликали введенням Т-залежного антигена – еритроцитів барана і оцінювали за кількістю накопичення антитілоутворювальних клітин у селезінці за описаним методом [4]. Як інгібітори синтезу NO використовували неселективний блокатор NO-синтаз – N^w-нітро – L-аргітин (L-NNA, “Sigma”, США) та селективні для iNOS – S-метилізотіорея (SMT “Sigma”) і дексаметазон (“KRKA”, Словенія); як донатор NO – нітропрурид натрію (НП, “Sigma”, США). Еритроцити барана (ЕБ) вводили одноразово, внутрішньовенно в дозі $2,5 \cdot 10^8$ клітин; блокатори NO-синтаз вводили двічі, внутрішньовенно за 1 год до та через 20 год після введення ЕБ. L-NNA вводили в дозі 75 мг/кг; SMT – 5 мг/кг, дексаметазон – 1 мг/кг; НП – 2,5 мг/кг. Контрольним тваринам вводили фізіологічний розчин. Дослідження проводили на 1, 5 та 14-ту добу після введення еритроцитів барана. Вміст про-

дукції NO, киснезалежний метаболізм за даними тесту відновлення нітросинього тетразолію (НСТ-тесту) та активність 5'-нуклеотидази визначали в клітинах перитонеального ексудату, вилучених за описаним методом [4]. Підрахунок клітин у суспензії проводили під світловим мікроскопом у камері Горяєва з використанням 0,2%-го розчину барвника трипанового синього для визначення життєздатності клітин (підраховували число живих – незабарвлених і загиблих – синіх клітин). Макрофаги в цій суспензії становили 25–40 %, лімфоцити – 59–74 %, гранулоцити – 1 %.

При визначенні вмісту продукції NO клітини перитонеального ексудату культивували у 48-лунковій планшеті (у лунки планшети поміщали по $1 \cdot 10^6$ клітин в об'ємі 250 мкл культурального середовища). Планшети з клітинами інкубували в термостаті при 37° С протягом 16 год у вологій камері. Роботу проводили в стерильних умовах. Кількість продукції NO визначали в надосадовій рідині за вмістом стабільних метаболітів – нітрит-аніонів, що утворюються з реактивом Гріса в кислому середовищі [14]; виміряли оптичну густину проб за допомогою приладу “EIA Microplate Reader” (“Sigma”, США) при довжині хвилі 545 нм. Активність 5'-нуклеотидази визначали за методом Диксон і Пурдом у модифікації Туманяна [8, 9]. Принцип методу полягає в здатності 5'-нуклеотидази гідролізувати аденозин-5-фосфорну кислоту (АМФ) з утворенням фосфору, за рівнем якого оцінювали ферментативну активність. Активність ферменту виражали в мікрограмах фосфору неорганічного на $1 \cdot 10^7$ клітин за 1 год. Киснезалежний метаболізм макрофагів перитонеального ексудату визначали у двох варіантах НСТ-тесту (спонтанному та індукованому форбол-міристат ацетатом) [6, 11]. Готували мазки з клітинами перитонеального ексудату, які фарбували квасцевим карміном. Під світловим мікроскопом обчислювали 100

макрофагів, серед яких були клітини з фіолетовими відкладеннями формазану (НСТ-позитивні клітини); підраховували індекс активації (в умовних одиницях) за формулою:

$$IA = \frac{A \cdot 0 + B \cdot 1 + C \cdot 2 + D \cdot 3}{100}$$

де А – кількість клітин без формазану або дуже його мало (пиловидні); В - кількість клітин, у яких площа відкладень формазану не перебільшує 1/3 від такої ядра клітини; С – кількість клітин, в яких відкладення формазану займають від 1/3 до усієї площі ядра клітини; Д – кількість клітин з включеннями, площа яких більша за площу ядра.

Статистичну обробку результатів проводили за методом різниць з використанням критерію t Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Виявилось, що вміст спонтанної продукції NO клітинами перитонеального ексудату, що виділяли від різних тварин, дуже варіював. При цьому спостерігали як низькі значення показників у деяких тварин – не більше від 10 мкм, так і достатньо високі – близько 70 мкм. Пояснити таку розбіжність у результатах складно. Це, певно, зумовлено як станом тварин на момент вилу-

чення клітин, так і різною реакцією клітин на процедуру їх виділення. Тому при оцінці вмісту продукції NO клітинами перитонеального ексудату, а також показників НСТ-тесту і активності ферменту 5'-нуклеотидази отримані результати представлено у відсотковому відношенні до контрольних значень.

Установлено, що в індуктивну фазу імунної відповіді (1-ша доба), коли анти-тілоутворювальних клітин у селезінці майже немає, продукція NO імунокомпетентними клітинами перитонеального ексудату становила в середньому 200 % від контролю (рис. 1). У продуктивну фазу (5-та доба), коли спостерігається максимальне накопичення антитілоутворювальних клітин у селезінці, вміст продукції NO знижувався і становив 80–135 % від контролю. На цьому рівні він зберігався і у фазу затухання імунної відповіді (14-та доба). У динаміці імунної відповіді зміни НСТ-тесту й активності ферменту 5'-нуклеотидази клітин перитонеального ексудату мали однакову спрямованість в усі строки дослідження. Так, в індуктивну фазу ці показники несуттєво збільшувалися (на 8 і 14 % у спонтанному та індукованому варіанті відповідно; активність 5'-нуклеотидази – на 5 %). У наступну продуктивну фазу спостерігалось

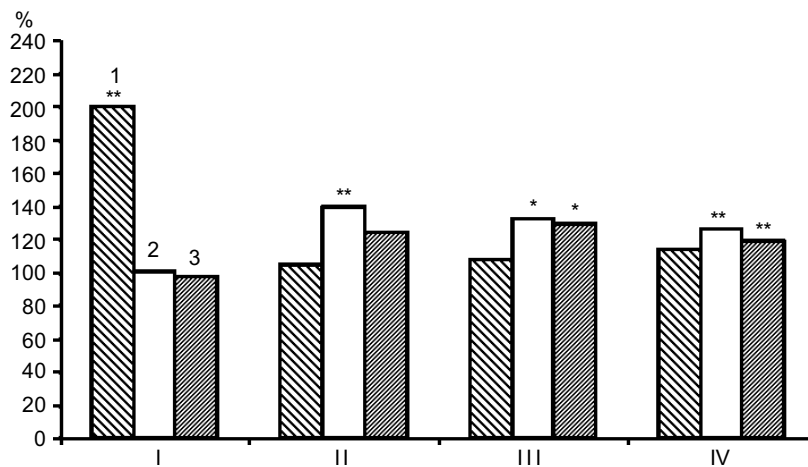
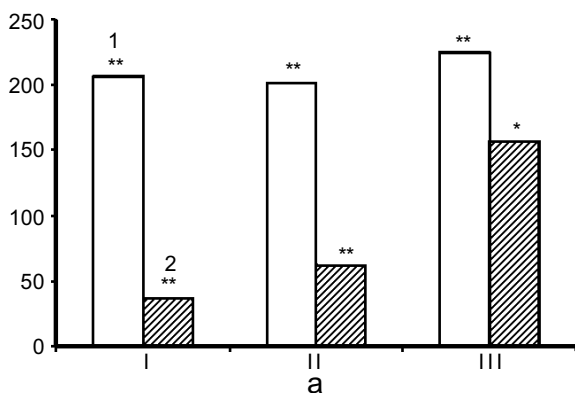


Рис. 1. Зміни продукції оксиду азоту (I), активності 5'-нуклеотидази (II) і киснезалежного спонтанного (III) та індукованого (IV) метаболізму в клітинах перитонеального ексудату в динаміці імунної відповіді у мишей на введення еритроцитів барана: 1 – 1-ша доба, 2 – 5-та добу, 3 – 14-та доба. Тут і на рис. 2–4: * P < 0,05; ** P < 0,01

їх вірогідне збільшення (на 32 і 26 % у спонтанному та індукованому варіанті тесту відповідно; активність 5'-нуклеотидази – на 40 %). Підвищеними ці показники залишалися і в фазу затухання імунної відповіді (на 29 і 19 % у спонтанному та індукованому варіанті відповідно; активність 5'-нуклеотидази – на 24 %). Отже, посилена продукція NO на початку імунної відповіді випереджувала зміни функціональної активності імунокомпетентних клітин.

Застосування блокаторів NO-синтаз призводило до зниження продукції NO клітинами перитонеального ексудату. При використанні блокатора iNOS SMT послаблення синтезу NO (на 30–40 %) виявлялося на всіх етапах розвитку імунної відповіді, при використанні неселективного блокатора L-NNA – тільки в індуктивну і продуктивну фази (на 12 і 14 %, відповідно). Застосування як неселективного (рис. 2,а), так і селективних для iNOS блокаторів сприяло підсиленню інтенсивності імунної відповіді на всіх стадіях її розвитку, більшою мірою вираженій при дії селективних блокаторів. Застосовані блокатори також викликали активацію 5'-нуклеотидази, але більш виражену при дії неселективного блокатора L-NNA (рис. 2,б). Вплив блокаторів NO-синтаз на киснезалежний метаболізм макрофагів був протилежним: в усі строки розвит-



ку імунної відповіді показники НСТ-тесту знижувалися (рис. 3,а). Більш виражений ефект реєстрували при застосуванні блокатора iNOS – дексаметазону. Найбільше пригнічення киснезалежного метаболізму спостерігалось у продуктивну фазу – на 77 і 69 % у спонтанному та індукованому варіанті НСТ-тесту відповідно.

Введення донатора NO НП істотно не впливало на продукцію NO імунокомпетентними клітинами. На імунну відповідь цей донатор NO чинив суттєвий вплив, характер якого залежав від стадії її розвитку (див. рис. 2). В індуктивну і меншою мірою продуктивну фазу відбувалося вірогідне зменшення накопичення антитілоутворювальних клітин у селезінці (на 63 і 44 % відповідно). У фазу згасання імунної відповіді спостерігалася протилежна дія – збільшення кількості антитілоутворювальних клітин на 57 %. Активність 5'-нуклеотидази незначно зменшувалася в індуктивну та продуктивну фази імунної відповіді (на 7 і 16 % відповідно), а в фазу згасання – рівень активності значно не відрізнявся від контрольного. Протилежним чином впливав донатор NO на киснезалежний метаболізм макрофагів. У всі строки дослідження показники НСТ-тесту збільшувалися (див. рис. 3,б). Найбільше посилення киснезалежного метаболізму спостерігалось в

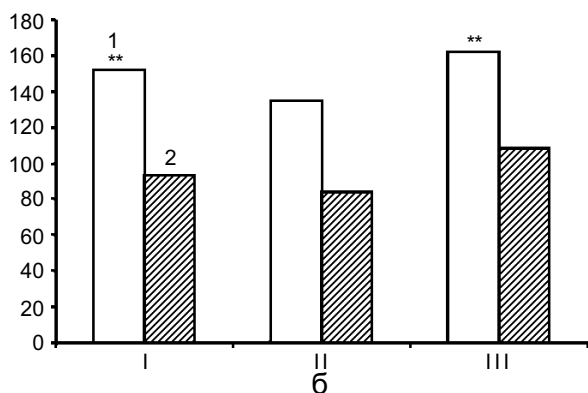


Рис. 2. Зміни інтенсивності імунної відповіді (кількість антитілоутворювальних клітин у селезінці мишей) – (а) та зміни активності 5'-нуклеотидази в клітинах перитонеального ексудату – (б) при застосуванні блокатора синтази оксиду азоту N^w-нітро-L-аргініну (1) та донатора оксиду азоту нітропрусиду натрію (2) у динаміці імунної відповіді: I – 1-ша доба, II – 5-та доба, III – 14-та доба

продуктивну фазу (на 30 і 26 % в спонтанному та індукованому варіантах НСТ-тесту відповідно).

Одержані нами результати свідчать про те, що NO виступає в ролі імунорегуляторної молекули при розвитку гуморальної імунної відповіді у мишей на введення гетероантигена. Індукція імунної відповіді антигеном викликала збільшення продукції NO імункомпетентними клітинами перитонеального ексудату, яке випереджувало активацію інших функцій цих клітин. На наступних етапах розвитку імунної відповіді продукція NO повертається майже до вихідного вмісту. Але саме від вмісту NO значною мірою залежить подальший розвиток імунної відповіді. Про це свідчить підвищення кількості антитілоутворювальних клітин у селезінці під впливом блокатора NO-синтази і зниження їх кількості при введенні донатора NO. Ці результати збігаються з даними Mac Farlane та співавт. [19], де було показано, що NO пригнічує утворення антитілоутворювальних клітин у селезінці мишей при імунізації еритроцитами барана на фоні інфікування *Salmonella typhimurium*, хоча і сприяє захисту від інфікування цим збудником. Таким чином, прослідковується роль NO саме як регулятора імунної відповіді.

Нами показано, що NO бере участь у регуляції киснезалежного метаболізму макрофагів: блокатор NO-синтази знижує його, а донатор NO – підсилює. Щодо активності 5'-нуклеотидази, NO також її змінює, але протилежним чином: блокатор NOS підвищує активність цього ферменту, а донатор NO – знижує. 5'-нуклеотидаза – ектофермент клітин, один з лектинових рецепторів, важливий при клітинній кооперації в імунній відповіді. Його функція пов'язана з метаболізмом (цАМФ). Вміст ендogenous цАМФ важливий для функціонування антитілоутворювальних клітин. Показано, що його підвищення призводить до зниження здатності цих клітин утворювати зони гемолізу [2]. Є дані також про те, що зниження активності 5'-нуклеотидази свідчить саме про активацію макрофагів [8]. Це узгоджується з нашими результатами про різноспрямовану реакцію киснезалежного метаболізму і активності 5'-нуклеотидази на дію модюляторів продукції NO (блокаторів NO-синтази і донатора NO). Той факт, що модуляція вмісту NO за допомогою блокаторів NO-синтази і донатора NO призводить до протилежної реакції з боку утворення антитілоутворювальних клітин і функціональної активності макрофагів свідчить про участь NO

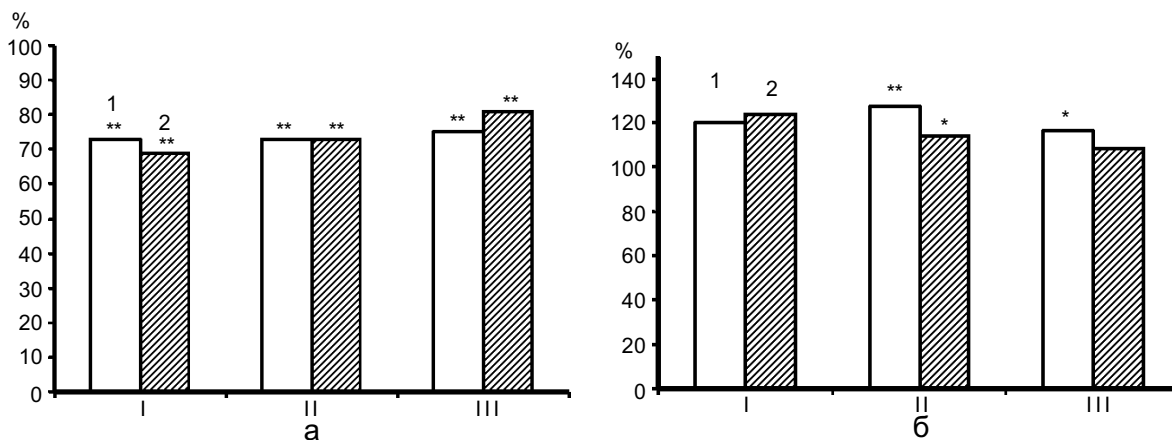


Рис. 4. Зміни киснезалежного спонтанного (1) та індукованого (2) метаболізму макрофагів перитонеального ексудату під впливом блокатора синтази оксиду азоту N^w-нітро-L-аргініну (а) та донатора оксиду азоту нітропрусиду натрію (б) в динаміці імунної відповіді: I – 1-ша доба, II – 5-та доба, III – 14-та доба

в регуляції імунної відповіді саме через супресорну функцію макрофагів. Ці результати збігаються з літературними даними про NO-залежні механізми супресорної активності макрофагів, а саме: зниження мітогенстимульованої проліферації лімфоцитів, продукція антитіл спленоцитами *in vitro* тощо [13, 16, 25, 27].

Таким чином, наші результати щодо змін продукції NO іммунокомпетентними клітинами (перитонеальними макрофагами і лімфоцитами) при розвитку гуморальної імунної відповіді у мишей на введення еритроцитів барана та щодо впливу блокторів NO-синтаз і донатора NO на інтенсивність імунної відповіді та функціональну активність макрофагів свідчить про участь NO в регуляції гуморальної імунної відповіді, опосередкованої, зокрема, супресорною функцією макрофагів.

**I.M.Alexeyeva, T.M.Bryzgina,
L.I.Alexyuk, T.V.Martynova, V.S.Sukhina**

THE ROLE OF NITRIC OXIDE IN THE DEVELOPMENT OF HUMORAL IMMUNE RESPONSE IN MICE

The immune response in CBA mice was evoked by injection of sheep erythrocytes. The number of antibody-producing cells in the spleen, as well as nitric oxide production, oxygen-dependent metabolism and 5'-nucleotidase activity of peritoneal macrophages and lymphocytes were studied on days 1-5-14 after immunization. It was shown that during the inductive phase of the immune response (day 1), the peritoneal cells increased nitric oxide production, while later their functional activity increased and NO level became normal. The use of NO-synthase inhibitors (non-selective L-NNA and iNOS inhibitors SMT and dexamethasone) increased the immune response and decreased the macrophage functional activity. The use of NO-donator SNP resulted in reverse effect: decrease of the immune response and stimulation of peritoneal cells functional activity. The data obtained indicate that nitric oxide participates in the immune response regulation, in particular, through the suppressive effect of macrophages.

O.O. Bogomoletz Institute of Physiology, National Academy of Science of Ukraine, Kyiv

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гоженко А.И., Бабий В.П., Котюжинская С.Г., Николаевская И.В. Роль оксида азота в механизмах

воспаления // Терап. і експерим. медицина. – 2001. – №3. – С.13–17.

2. Журавкин И.Н., Громыкина Н.Ю., Козлов В.А. Иммунодепрессивный эффект сингенных эритроцитов на этапе зрелых антителообразующих клеток // Иммунология. – 1984. – № 5. – С. 46–48.
3. Ивашкин В.Т., Драпкина О.М. Оксид азота в регуляции функциональной активности физиологических систем // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2000. – № 4. – С. 16–21.
4. Иммунологические методы. /Под редакцией Г.Фримеля. – М.: Медицина, 1987. – С. 57–63; 366–369.
5. Малышев И.Ю. Введение в биохимию азота. Роль оксида азота в регуляции основных систем организма // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 1997. – № 1. – С. 49–55.
6. Маянский А.Н., Виксман М.Е., Котельников П.Н., Молчанова И.В. Характеристика функциональной активности нейтрофилов крови человека с помощью реакции восстановления нитросинтетической тетразоли // Журн. микробиологии. – 1977. – № 6. – С. 108–111.
7. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Реутов В.П. Оксид азота и NO-синтазы в организме млекопитающих при различных функциональных состояниях // Биохимия. – 2000. – 65, №4. – С. 485–503.
8. Туманян М.А., Кирилличева Г.Б., Изменение 5-нуклеотидазной активности в макрофагах перитонеального экссудата мышей при введении различных иммуностимуляторов // Иммунология. – 1984. – № 5. – С. 29–31.
9. Туманян М.А., Кирилличева Г.Б. Действие иммуномодуляторов на ферментативную активность макрофагов перитонеального экссудата мышей. // Там же. – 1987. – № 6. – С. 34–37.
10. Фанин А.Ф. Оксид азота в биологии: История, состояние, перспективы исследований // Биохимия. – 1988. – 63, вып. 7. – С. 867–869.
11. Шубич М.Г., Медникова В.Г. NST-тест у детей в норме и при гнойно-бактериальных инфекциях // Лаб. дело. – 1978, №9. – С. 515–518.
12. Auger M.J., Ross J.A. The Biology of the Macrophage. – New-York: IRL press, 1992. – 174 p.
13. Angulo I., Rodriguez R., Garcia B. et all. Involvement of nitric oxide in bone marrow-derived natural suppressor activity. Its dependence on IFN-gamma // J. Immunol. – 1995. – 155. – P. 15–26.
14. Archer S. Measurement of nitric oxide in biological models // FASEB J. – 1993. – №7. – P. 349–360.
15. Davies P., Bonney R.J., Humes J.L., Kuehl F.A. Secretion of arachidonic acid oxygenation products by mononuclear phagocytes: Their possible significance as modulators of lymphocytes function. – In: Macrophage Regulation of Immunity. New-York: Acad. Press, 1980. – P. 347–360.
16. Denham S., Rowland I.J. Inhibition of the reactive proliferation of lymphocytes by activated macrophages: the role of nitric oxide // Clin. Exp. Immunol. – 1992. – 87. – P. 157–162.

17. Lianos E.A., Guglielmi K., Sharma H. Regulatory interactions between inducible nitric oxide synthase and eicosanoids in glomerular immune injury // *Kidney Int.* – 1998. – **53**. – P. 645–653.
18. Lianos E.A., Lin J. Changes in inducible nitric oxide synthase expression in experimental glomerulonephritis // *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* – 1997. – **215**. – P. 405–411.
19. MacFarlane A.S., Schwacha M.G., Eisenstein T.K. In vivo blockage of nitric oxide with aminoguanidine inhibits immunosuppression induced by an attenuated strain of *Salmonella typhimurium*, potentiates *Salmonella* infection, and inhibits macrophage and polymorphonuclear leukocyte influx into the spleen // *Infect. Immun.* – 1999. – **67**, № 2. – P. 891–898.
20. Marcin Kiewicz J. Nitric oxide and antimicrobial activity of reactive oxygen intermediates // *Immunopharmacology.* – 1997. – **37**, № 1. – P. 35–41.
21. Marcin Kiewicz J. Regulation of cytokine production by eicosanoids and nitric oxide // *Arch. Immunol. Ther. Exp. (Warsz)*. – 1997. – **45**. – P. 163–167.
22. Moncada S., Higgs A. The L-arginine nitric oxide pathway // *New Eng. J. Med.* – 1993. – **329**. – P. 2002–2010.
23. Mulligan M.S. Protective effects of inhibitors of nitric oxide synthase in immune complex-induced vasculitis // *Brit. J. Pharmacol.* – 1992. – **107**, № 4. – P. 1159–1162.
24. Ruuls S.R., Van Der Linden S., Sontrop K. et al. Aggravation of experimental allergic encephalomyelitis (EAE) by administration of nitric oxide (NO) synthase inhibitors // *Clin. Exp. Immunol.* – 1996. – **103**, № 3. – P. 467–474.
25. Takagi K., Nukaya I., Yasukawa K., Suketa Y. Inhibitory mechanisms of antibody production by nitrogen oxides released from activated macrophages during the immune response: Relationship to energy consumption // *Immunol. and Cell Biol.* – 1994. – **72**, № 3. – P. 241–248.
26. Teixeira M.M., Fairbairn S.M., Norman K.E. et al. Studies on the mechanisms involved in the inflammatory response in a reversed passive Arthus reaction in guinea pig skin; contribution of neutrophils and endogenous mediators // *Brit. J. Pharmacol.* – 1994. – **113**. – P. 1363–1371.
27. Tomioka H., Saito H. Characterization of immunosuppressive functions of murine peritoneal macrophages induced with various agents // *J. Leukoc. Biol.* – 1992. – **51**, № 1. – P. 24–31.
28. Xiaoguang N., Zhong L., Hailong C. et al. The relation between apoptosis of acinar cells and nitric oxide during acute rejection of pancreas transplantation in rats // *Transpl. Immunol.* – 2003. – **11**, № 1. – P. 15–21.
29. Xing Z., Schat K. A. Inhibitory effects on nitric oxide and gamma interferon on in vitro and in vivo replication of Marek's disease virus // *J. Virol.* – 2000. – **74**, № 8. – P. 3605–3612.
30. Vouldoukis I., Riveros-Moreno V., Dugas B. et al. The killing of *Leishmania major* by human macrophages is mediated by nitric oxide induced after ligation of the Fc epsilon R II/CD23 surface antigen // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1995. – **92**, № 17. – P. 7804–7808.
31. Worrall N.K., Lazenby W.D., Misko T.P. et al. Modulation of in vivo alloreactivity by inhibition of inducible nitric oxide synthase // *J. Exp. Med.* – 1995. – **181**. – P. 63–70.

*Ин-т фізіології ім. О.О. Богомольця НАН України,
Київ*

*Матеріал надійшов до
редакції 23.05.2005*