

3. Региональный (расово-экологический) принцип изменчивости

В южной части Беларуси дебрахицефализация у населения начинается раньше, чем у населения в северной ее части. Южный антропологический тип, будучи брахицефальнее северного, раньше достигает верхней границы среднегрупповых значений брахицефальности. В этой связи у южного населения раньше начинается «возвратная» дебрахицефализация, чем у северного.

Если первые два принципа могут быть универсальными для любого брахицефального населения, то третий принцип является специфическим для Беларуси в силу особенностей антропологического состава.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Саливон, I. I. Фізичны тып беларусаў: Узростава, тыпалагічная і экалагічная зменлівасць / I. I. Салівон. — Минск: Навука і тэхніка, 1994. — 239 с.
2. Саливон, И. И. Процесс формирования пропорций мозгового отдела черепа у школьников Беларуси в начале 1980-х и 2000-х гг. / И. И. Саливон // Актуальные вопросы антропологии: сборник научных трудов — Минск: Право и экономика, 2008. — Вып. 3. — С. 19–30.
3. Бунак, В. В. Антропологические исследования в южной Белоруссии / В. В. Бунак // Тр. Ин-та этнографии им. Н. Н. Миклухо-Маклая. Новая серия, т. XXXIII. Антропологический сборник. — М., 1956. — Вып. 1. — С. 3–36.
4. Рокицкий, П. Ф. Введение в статистическую генетику / П. Ф. Рокицкий. — Минск: Выш. шк., 1978. — 448 с.
5. Martin, R. Lehrbuch der Anthropologie in systematischer Darstellung / R. Martin. — Jena, 1928. — Bd 1–3.
6. Восточные славяне. Антропология и этническая история. — М.: Научный Мир, 1999. — 336 с.
7. Бунак, В. В. Об эволюции формы черепа / В. В. Бунак // Вопр. антропологии. — 1968. — Вып. 30. — С. 3–16.

Поступила 01.09.2011

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА И БИОЛОГИЯ

УДК547.112.824:541.69

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ НЕКОТОРЫХ НИЗКОМОЛЕКУЛЯРНЫХ АГЕНТОВ РАЗЛИЧНОГО ХИМИЧЕСКОГО СТРОЕНИЯ С БЫЧЬИМ СЫВОРОТОЧНЫМ АЛЬБУМИНОМ

Ю. В. Корноушенко¹, В. А. Игнатенко², П. А. Авдеев¹, Л. А. Евтухова¹

¹Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины

²Гомельский государственный медицинский университет

В данной работе обобщены результаты проведенных модельных экспериментов в рамках работы, описанной в научной статье «Флуоресцентные исследования конформационных изменений альбумина под действием пероксинитрита в растворе». Данная статья является основой при изучении характера влияния пероксинитрита на конформационные изменения сывороточного альбумина.

Учитывая относительную стабильность пероксинитрита, необходимо допустить влияние на конформацию сывороточного альбумина продуктов распада пероксинитрита, чтобы отделить истинное действие пероксинитрита от продуктов его распада на сывороточный альбумин.

В данной работе изучали действие на бычий сывороточный альбумин таких низкомолекулярных соединений, как нитрит натрия, пероксид водорода, сульфат меди (II), гидроксильный радикал.

Ключевые слова: бычий сывороточный альбумин (БСА), зонд (N-фенил-1-амино-8-сульфонафталин) АНС, флуоресцентная спектроскопия, гидроксильный радикал, конформация, нитрит натрия, сульфат меди (II).

INTERACTION BETWEEN SOME LOW-MOLECULAR AGENTS WITH DIFFERENT CHEMICAL STRUCTURE AND BOVINE SERUM ALBUMIN

Yu. V. Kornoushenko¹, V. A. Ignatenko², P. A. Avdeev¹, L. A. Evtukhova¹

¹Gomel State University named after F. Skorina

²Gomel State Medical University

The present article summarizes the results of the performed model experiments within the scope of another research, described in the paper: «Fluorescence studies of the conformational changes of albumin under the influence of peroxy nitrite in solution». Thus the article provides a framework to study the nature of the influence of peroxy nitrite on the conformational changes of serum albumin.

Taking into account the relative stability of peroxy nitrite, it is necessary to allow the effect of decay products of peroxy nitrite on the conformation of serum albumin to separate the true effect of peroxy nitrite from its decay products on the serum albumin.

In this paper we studied the effect of low molecular weight compounds such as sodium nitrite, hydrogen peroxide, copper sulfate (II), hydroxyl radical on bovine serum albumin.

Key words: bovine serum albumin (BSA), ANS probe, fluorescence spectroscopy, hydroxyl radical, conformation, sodium nitrite, copper sulfate (II).

Введение

Интерес к исследованию альбумина, наблюдаемый в последние 50 лет, связан с открытием все новых его функций в организме. Уже один показатель содержания его в крови (60 % от всех белков плазмы) свидетельствует о ключевом значении альбумина для выполнения кровью своих функций. С другой стороны, его распространенность в различных физиологических жидкостях (интерстициальной, лимфе), а также различных тканях показывает большую важность именно этого белка для организма по сравнению с другими.

Для подтверждения таких выводов надо обратиться к строению альбумина. В 70–80-х гг. прошлого века была расшифрована аминокислотная последовательность и в целом пространственная структура сывороточного альбумина. Оказалось, что его уникальное строение позволяет связывать различные по своей химической природе вещества (альдегиды, алканы, жирные кислоты, металлы постоянной и переменной валентности, различные низкомолекулярные вещества, обладающие как гидрофобными, так и гидрофильными свойствами) и переносить их в крови. Таким образом, ключевая функция альбумина — транспортная. Позже было выяснено участие альбумина в антиокислительных процессах, в поддержании онкотического давления плазмы и даже в направленной локомоции нейтрофилов в очаги воспаления и т. д. [1].

Из вышеизложенного можно сделать вывод, что значение альбумина в поддержании гомеостаза огромно. Однако известно, что при связывании альбумина с различными лигандами его конформация определенным образом изменяется и это может отразиться на его связывании с другими лигандами. Флуоресцентным методом можно зарегистрировать многие тонкие конформационные изменения альбумина, что дает возможность судить о качественном состоянии белка, а по качеству структуры альбумина можно оценить и степень патологического состояния организма.

Как известно основными компонентами лабораторного синтеза пероксинитрита (*in vitro*) являются нитрит-анионы и пероксид водорода. Реакцию проводят в кислой среде.

In vivo пероксинитрит образуется при быстрой рекомбинации монооксида азота (продукта ферментативного окисления L-аргинина) и надпероксид-аниона $O_2^{\cdot-}$ — обычного продукта клеточного аэробного метаболизма [1].

Перечислим основные характеристики и физиологическую роль низкомолекулярных агентов (нитриты, пероксид водорода, гидроксильные радикалы, ионы двухвалентной меди), взаимодействие которых с бычьим сывороточным альбумином стало предметом исследования данной работы.

Нитриты. Нитраты считаются одними из самых опасных химических соединений, так как способны вызвать серьезные нарушения в организме человека. Нитраты присутствуют в питьевой воде, во многих удобрениях, которые активно используют в сельском хозяйстве для повышения урожайности культур. По этой причине нитраты в овощах и фруктах часто содержатся в значительной концентрации. Попадая с пищей в организм человека, нитраты в больших количествах способны вызывать отравления, различные расстройства и хронические заболевания [2].

Сами по себе нитраты для людей не ядовиты, но в организме они превращаются в нитриты, которые и оказывают пагубный эффект. Под действием фермента нитратредуктазы нитраты восстанавливаются до нитритов, которые вступают во взаимодействие с гемоглобином крови, что приводит к окислению в нем двухвалентного железа в трехвалентное. В итоге образуется метгемоглобин, который не переносит кислород. Таким образом, происходит нарушение нормального дыхания клеток. Происходит накопление холестерина, молочной кислоты, значительно снижается количество белка.

Нитриты являются мутагенами, дезаминирующими азотистые основания ДНК, а в кислой среде желудка млекопитающих нитриты и аминосоединения дают нитрозосоединения — супермутагены [3].

Пероксид водорода. Является клеточным метаболитом и относится к группе веществ с названием «активные метаболиты кислорода» (АМК). Некоторые ферменты, например, глюкоксидоза образуют в ходе окислительно-восстановительной реакции пероксид водорода, который может играть защитную роль в качестве бактерицидного агента. В клетках млекопитающих нет ферментов, которые бы восстанавливали кислород до перекиси водорода. Однако несколько ферментных систем (ксантиноксидаза, НАД(Ф)Н-оксидаза, циклоксигеназа и др.) продуцируют супероксид, который спонтанно или под действием супероксиддисмутазы превращается в перекись водорода.

Перекись водорода играет важную роль в обеспечении функциональных свойств биомембран, клеточном делении, энергетических процессах и т. д. [4].

Необходимость исследования влияния нитритов и пероксида водорода на сывороточный альбумин вытекает из того, что данные соединения являются главными компонентами, из которых *in vitro* синтезируется пероксинитрит.

Ионы двухвалентной меди в кислой среде облегчают процесс олигомеризации молекул сывороточного альбумина с образованием дву-, три- и тетрамерных форм. Наиболее возможный путь димеризации заключается в формировании дисульфидных мостов в результате окисления SH-групп меркаптоальбумина [5].

Зная флуоресцентные характеристики олигомеров сывороточного альбумина, можно оценить данным методом влияние пероксинитрита на олигомерное состояние альбумина.

С другой стороны, при взаимодействии ионов двухвалентной меди с пероксидом водорода образуются гидроксильные радикалы, которые разрушающе действуют на нативную структуру большинства белков [6]. Исследование влияния гидроксильных радикалов является модельным экспериментом, необходимым при изучении действия данного типа радикалов как одного из активных начал, образующихся при распаде пероксинитрита.

Цель работы

Проведение модельных экспериментов по взаимодействию сывороточного альбумина с компонентами синтеза пероксинитрита и некоторыми другими низкомолекулярными агентами, с последующими их интерпретацией и изучением полученных результатов.

Материалы и методы

Объектом исследования является бычий сывороточный альбумин фирмы «Sigma-Aldrich».

Предметом исследования стало изучение взаимодействия компонентов лабораторного синтеза пероксинитрита и некоторых других низкомолекулярных соединений с бычьим сывороточным альбумином.

Флуоресценцию растворов альбумина исследовали на спектрофлуориметре марки Cary Eclipse.

Концентрацию БСА для экспериментов взяли равной 10^{-5} моль/л или 0,66 г/л. Она является оптимальной, то есть флуоресценция белка связана прямопропорциональной зависимостью с концентрацией. Для нахождения данной концентрации строили калибровочный график зависимости интенсивности флуоресценции от концентрации белка. На графике нашли отрезок, характеризующийся прямой пропорциональной зависимостью, и поделив его пополам, получили значение оптимальной концентрации альбумина.

Собственную флуоресценцию, обусловленную в основном триптофанилами, определяли на спектрофлуориметре при длинах волн возбуждения 280 и 290 нм, а эмиссию измеряли при длине волны 350 нм.

Помимо собственной флуоресценции белка исследовали зондовую флуоресценцию. В качестве зонда использовали N-фенил-1-амино-8-сульфонафталин (АНС). Количество зонда, необходимое для реакции с альбумином, рассчитывали, исходя из того, что количество центров на альбумине для АНС равно 5–6. Поэтому концентрацию зонда для эксперимента взяли равной 6×10^{-5} моль/л.

Зондовую флуоресценцию определяли на спектрофлуориметре при длине волны возбуждения 320 нм, а эмиссию измеряли при длине

волны 450 нм. В качестве зонда использовали N-фенил-1-амино-8-сульфонафталин (АНС).

Ход проведения исследования складывался из нескольких этапов:

1. Влияние нитрита натрия в различных концентрациях на БСА. Растворы сывороточного альбумина концентрацией 10^{-5} М получали в буфере Na_2HPO_4 с $\text{pH} = 7,68$, близкой к физиологическому значению pH крови. Также, в качестве модельного эксперимента готовили водный раствор БСА. В две пробирки с сывороточным альбумином, приготовленным в воде и в буфере, добавляли различные концентрации нитрита натрия (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} моль/л). На спектрофлуориметре регистрировали значения спектров собственной и зондовой флуоресценции.

2. Влияние пероксида водорода в различных концентрациях на БСА. Методика проведения эксперимента была аналогична методике, описанной в первом пункте, за исключением концентраций пероксида водорода: 0,018; 0,036; 0,072; 0,14; 0,28; 0,56 мМоль/л.

3. Изучение влияния гидроксильных радикалов на сывороточный альбумин в присутствии 70 % этилового спирта и в его отсутствии. Свободные радикалы получали по реакции Вейсса-Габера путем добавления к CuSO_4 пероксида водорода. Концентрации пероксида водорода и сульфата меди (II) были равны 10^{-5} моль/л. В пять пробирок с сывороточным альбумином добавляли смесь CuSO_4 и H_2O_2 , причем в каждой последующей пробирке количество смеси, а следовательно, и количество радикалов увеличивали в арифметической прогрессии. Регистрировали значение собственной и зондовой флуоресценции. Затем брали еще 5 пробирок, проводили аналогичные операции, только перед внесением смеси CuSO_4 и H_2O_2 добавляли в раствор БСА 20 мкл 70 % этилового спирта.

4. Влияние ионов тяжелых металлов на примере ионов двухвалентной меди на конформацию бычьего сывороточного альбумина. Готовили водные растворы: бычьего сывороточного альбумина (БСА) (10^{-5} моль/л), сульфата меди (II) (10^{-4} – 10^{-15} моль/л). Также был приготовлен спиртовой раствор флуоресцентного зонда N-фенил-1-амино-8-сульфонафталина (АНС) (6×10^{-5} моль/л).

Методика данного этапа состояла из 4 подэтапов:

а) титрование зондом центров посадки для АНС на бычьем сывороточном альбумине (нахождение оптимальной концентрации БСА);

б) действие ионов меди (II) в концентрациях 10^{-5} – 10^{-15} моль/л на собственную флуоресценцию БСА;

в) влияние различных концентраций меди (II) на зондовую флуоресценцию альбумина;

г) воздействие различных концентраций АНС и меди на БСА.

Результаты и их обсуждение

1. В результате проведения экспериментов по влиянию различных концентраций нитрита

натрия на конформацию сывороточного альбумина были получены результаты, отраженные на рисунках 1–4.

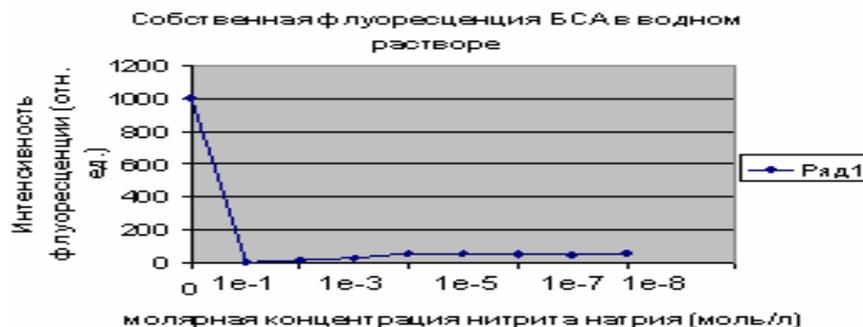


Рисунок 1 — Значения максимумов интенсивности собственной флуоресценции БСА при действии на него различных концентраций нитрита натрия, в водном растворе



Рисунок 2 — Значения максимумов интенсивности собственной флуоресценции БСА при действии на него различных концентраций нитрита натрия, в фосфатном буфере



Рисунок 3 — Значения максимумов интенсивности зондовой флуоресценции БСА при действии на него различных концентраций нитрита натрия, в водном растворе



Рисунок 4 — Значения максимумов интенсивности зондовой флуоресценции БСА при действии на него различных концентраций нитрита натрия, в фосфатном буфере

Общее сходство всех графиков — это падение интенсивности собственной и зондовой флуоресценции при концентрации нитрита натрия 10^{-1} моль/л, затем при снижении концентрации соли интенсивность флуоресценции возрастает. Данный факт может быть обусловлен либо процессами тушения, либо процессами, приводящими к конформационным изменениям в белке под действием нитрита натрия. В пользу последнего предположения свидетельствует факт о сдвиге спектров собственной флуоресценции, причем в короткую сторону. Коротковолновый сдвиг может говорить о погружении поверхностного триптофанила БСА внутрь глобулы, следовательно, происходит изменение конформации белка. Интересной особенностью является одинаковый характер хода кривых, но при этом с разнящимися значениями интенсивности флуоресценции. Различия в значениях интенсивности обусловлены рН-средой, в которой находится БСА. Так, в водной среде значение интенсивности как зондовой, так и собственной флуоресценции (рисунки 1, 3) ниже таковой в фосфатном буфере (рисунки 2, 4). Данный факт может объясняться наличием большего количества структурированной воды в фосфатном буфере, что намного снижает процессы тушения триптофановой флуоресценции молекулами воды. Сни-

жение зондовой флуоресценции при добавлении нитрита натрия может свидетельствовать о взаимодействии нитрит-ионов либо продуктов диспропорционирования азотистой кислоты с центрами посадки для зонда. В доказательство данного предположения был проведен эксперимент по влиянию нитрита натрия на флуоресценцию зонда АНС, свободного от белка. В результате интенсивность флуоресценции не изменялась, что свидетельствует об отсутствии химического взаимодействия зонда с нитритом натрия.

В ходе эксперимента по влиянию нитрита натрия на конформацию БСА и анализа данных можно сделать вывод, что нитрит натрия влияет на конформационное состояние белковой глобулы, приводя его к перестройкам.

Предполагается, что изменение конформации БСА происходит не только за счет действия самих нитритов-ионов на белковую глобулу, но и опосредованно — через продукты его диспропорционирования: NO и NO^3 .

Также предполагается, что нитрит натрия химически взаимодействует за центры связывания с зондом, что может уменьшать лиганд связывающую способность БСА.

2. В результате проведения экспериментов по изучению влиянию различных концентраций пероксида водорода на БСА были получены результаты, отраженные на рисунке 5.

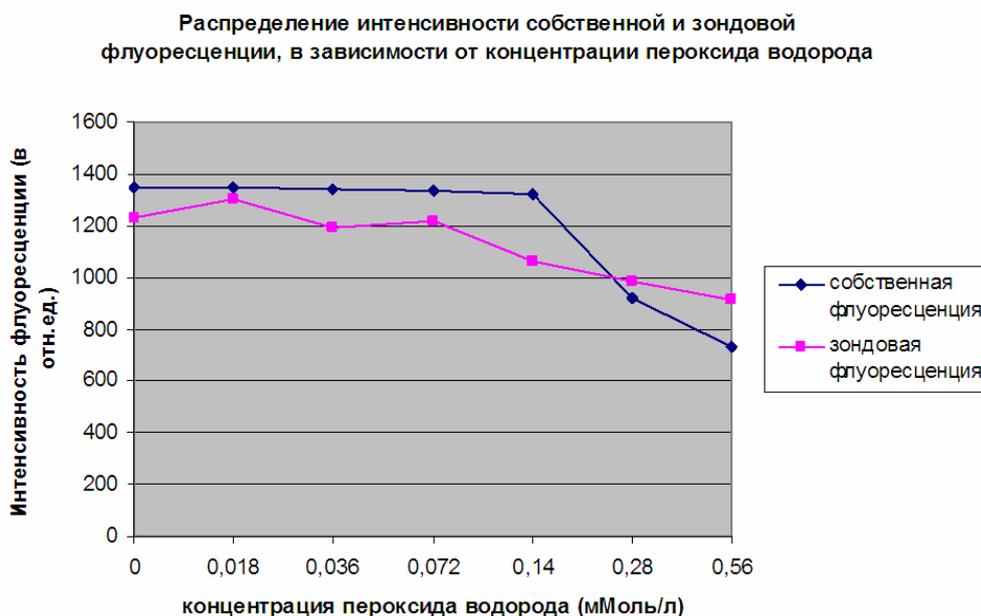


Рисунок 5 — Значения максимумов интенсивности собственной и зондовой флуоресценции при действии различных концентраций пероксида водорода на сывороточный альбумин

Как видно на рисунке 5, при концентрации пероксида водорода, равной концентрации БСА, интенсивность собственной флуоресценции снижается почти незаметно, что говорит о слабом воздействии перекиси (в данной концентрации) на состояние триптофанила в белке, а следовательно, и на

конформацию альбумина в целом. При увеличении концентрации перекиси водорода в 10 раз происходит значительное падение интенсивности собственной флуоресценции. Это может свидетельствовать об изменении конформации БСА. Значения интенсивности зондовой флуоресценции изменяются

более резко и также с увеличением концентрации снижаются. Данный факт может указывать на возможность взаимодействия перекиси с зондом АНС либо с центрами его посадки.

3. Результаты эксперимента о влиянии свободных радикалов на БСА представлены на рисунке 6.

На рисунке 6 видно, что последовательное увеличение концентрации сульфата меди (II) и пероксида водорода автоматически увеличивает

концентрацию гидроксильных свободных радикалов в растворе БСА. В результате происходит разрушение нативной структуры БСА, что отражается на значениях собственной и зондовой флуоресценции. По зондовой флуоресценции можно судить о разрушении центров посадки для АНС либо самой молекулы АНС, в результате чего значение интенсивности зондовой флуоресценции значительно снижается.

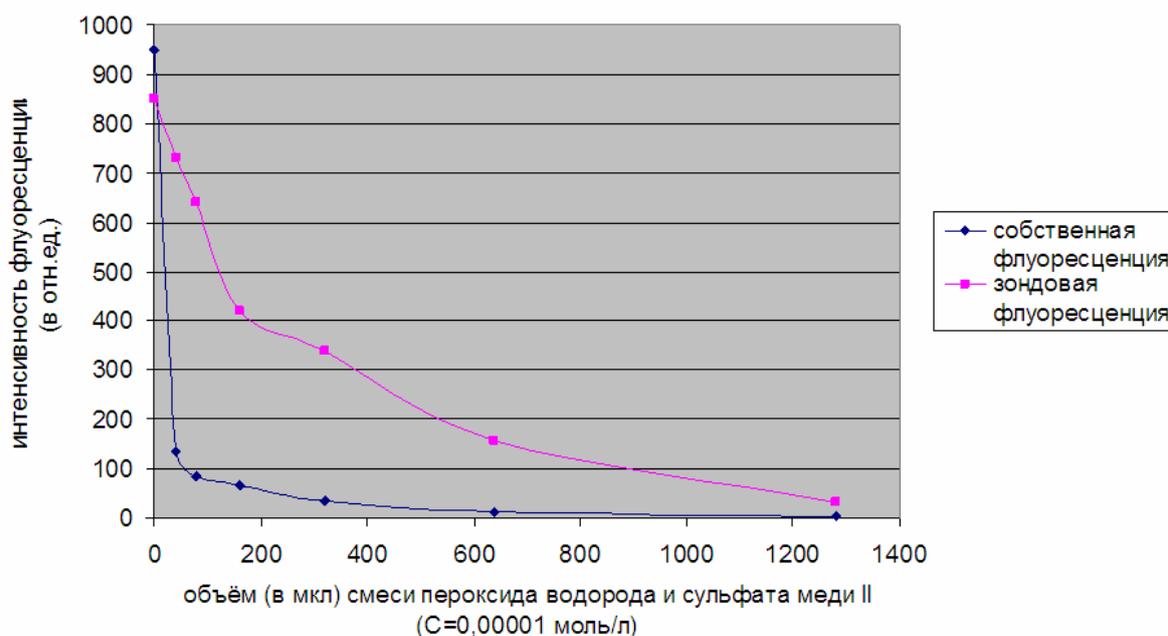


Рисунок 6 — Значения максимумов интенсивности собственной и зондовой флуоресценции при сочетанном влиянии пероксида водорода и сульфата меди (II) на БСА

При добавлении к 10^{-5} моль/л БСА 20 мг CuSO_4 и 20 мкл H_2O_2 , а также 20 мкл этилового спирта 70 % было замечено, что интенсивность собственной флуоресценции снижается значительно при добавлении 70 % спирта. На основании этого было сделано заключение, что 70 % спирт усиливает разрушающее действие свободных радикалов.

Концентрацию этилового спирта разбавили до 15 % и вновь добавили к БСА, при этом интенсивность флуоресценции не падала. При добавлении к данной смеси CuSO_4 интенсивность флуоресценции значительно снизилась. Для образования свободных радикалов в исходную смесь добавили 20 мкл H_2O_2 , в результате чего интенсивность флуоресценции незначительно снизилась. Предположили, что причина падения интенсивности происходит из-за сульфата меди (II), либо из-за процессов тушения, либо из-за создания совместного эффекта при определенном взаимодействии CuSO_4 и этилового спирта, зависящим от соотношения их концентраций.

Разбавили CuSO_4 в концентрации 10^{-5} моль/л до концентрации 10^{-8} моль/л, то есть в 100 раз.

Затем полученный раствор добавили к БСА, при этом интенсивность флуоресценции не снизилась. Прибавили к смеси 20 мкл 15 % спирта — ИФ практически не снизилась. Когда прибавили к смеси еще и 20 мкл H_2O_2 , то флуоресценция значительно снижалась.

При смешивании компонентов в количествах: 20 мкл этилового спирта + 10^{-5} моль/л БСА + 20 мкл CuSO_4 (10^{-8} моль/л) + 40 мкл H_2O_2 (10^{-5} моль/л) интенсивность собственной флуоресценции практически не снижалась. Этот факт указывает на то, что было найдено соотношение концентрации БСА, этилового спирта, сульфата меди (II) и пероксида водорода, при котором этиловый спирт был перехватчиком свободных радикалов.

Таким образом, этиловый спирт в невысоких концентрациях способен связывать свободные гидроксильные радикалы, предохраняя альбумин от повреждения радикалами.

4. Результаты исследования о влиянии ионов тяжелых металлов, на примере ионов меди (II), на конформацию бычьего сывороточного альбумина представлены на рисунках 7–10.

Титрование зондом центров посадки для АНС на БСА

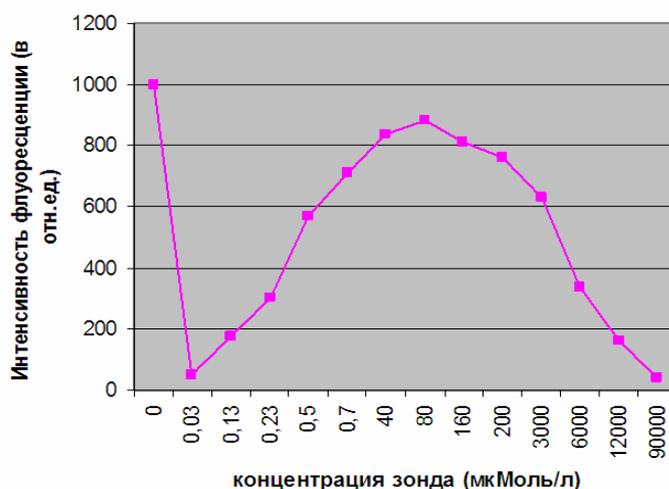


Рисунок 7 — Значения максимумов интенсивности зондовой флуоресценции при титровании БСА зондом АНС

Влияние ионов меди (II) на собственную флуоресценцию БСА

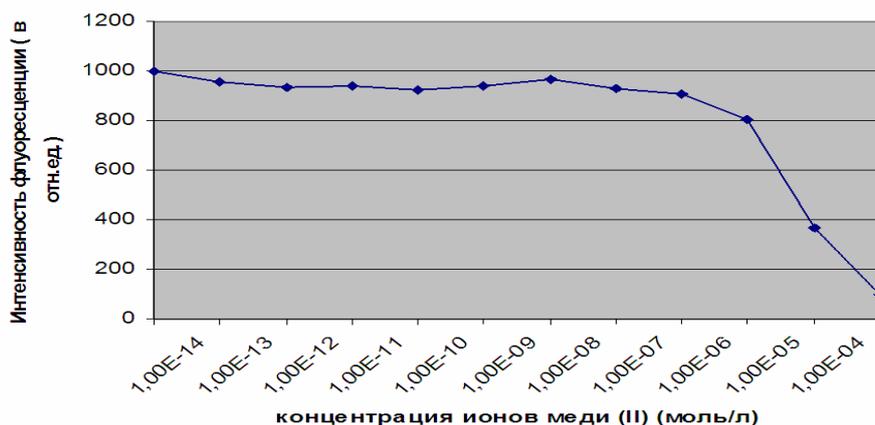


Рисунок 8 — Значения максимумов интенсивности собственной флуоресценции белка при влиянии на него ионов меди (II)

Влияние разных концентраций меди (II) на зондовую фл-ю

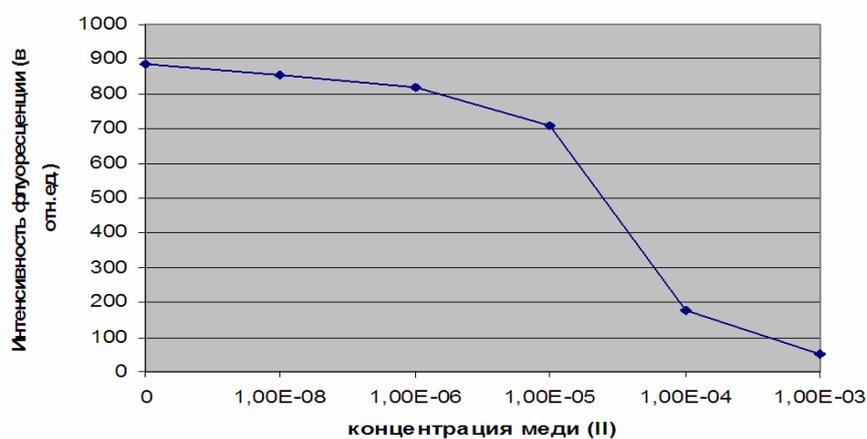


Рисунок 9 — Значения максимумов интенсивности зондовой флуоресценции белка при влиянии на него ионов меди (II)

Действие разных концентраций АНС и Cu (II) на БСА

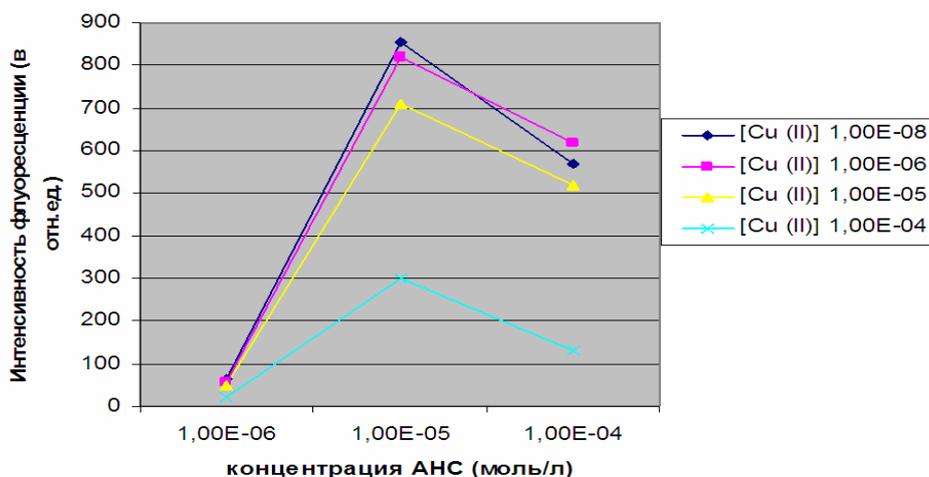


Рисунок 10 — Значения максимумов интенсивности зондовой флуоресценции при действии разных концентраций АНС и Cu (II) на БСА

Из представленных результатов можно сделать следующие **выводы**:

1. Был оттитрован БСА зондом АНС. Концентрация зонда в наивысшей точке интенсивности флуоресценции составила 80 мкМоль/л.

2. При концентрации Cu (II) 10^{-7} Моль/л и последующем увеличении концентрации меди (II) происходит заметное падение интенсивности флуоресценции.

3. Взаимного эффекта от действия Cu (II) и АНС не было выявлено.

4. С увеличением концентрации Cu (II) предполагается увеличение степени олигомеризации БСА, при этом лиганд образующая способность альбумина падает

Заключение

В ходе эксперимента по влиянию нитрита натрия на конформацию БСА и анализа данных можно сделать вывод, что нитрит натрия влияет на конформационное состояние белковой глобулы, приводя его к перестройкам.

Предполагается, что изменение конформации БСА происходит не только за счет действия самих нитритов-ионов на белковую глобулу, но и опосредованно — через продукты его диспропорционирования: NO и NO_2^- .

Также предполагается, что нитрит натрия химически взаимодействует за центры связывания с зондом, что может уменьшать лиганд связывающую способность БСА.

Предполагается, что пероксид водорода вносит значительный вклад в процесс тушения флуоресценции.

Действие свободных радикалов на сывороточный альбумин ведет к разрушению нативной структуры альбумина, а также вносит зна-

чительный вклад в уменьшение интенсивности флуоресценции вследствие разрушения микроокружения триптофанильных хромофоров, разрушения дисульфидных и других типов связей, участвующих в формировании структурно-функциональной конформации белка. Причем этиловый спирт в невысоких концентрациях способен связывать свободные гидроксильные радикалы, предохраняя альбумин от повреждения радикалами.

При концентрации Cu (II) 10^{-7} Моль/л. и последующем увеличении концентрации меди (II) происходит заметное падение интенсивности флуоресценции.

Взаимного эффекта от действия Cu (II) и АНС не было выявлено.

С увеличением концентрации Cu (II) предполагается увеличение степени олигомеризации БСА, при этом лиганд образующая способность альбумина падает.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Зинчук, В. В. Действие пероксинитрита на сродство гемоглобина к кислороду in vitro / В. В. Зинчук // Биофизика. — 2006. — Т. 51, Вып. № 1. — С. 32–38.
2. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине / Под ред. Ю. А. Грызунова, Г. Е. Добрецова. — М.: ИРИУС, 1994. — 226 с.
3. Мушкабаров, Н. Н. Молекулярная биология: учеб. пособие для студ. мед. вузов / Н. Н. Мушкабаров, С. Л. Кузнецов. — М.: ООО «Медицинское информационное агенство», 2007. — 536 с.
4. Луйк, А. И. Сывороточный альбумин и биотранспорт ядов / А. И. Луйк, В. Д. Лукьянчук. — М.: Медицина, 1984. — С. 12–29.
5. Добрецов, Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеточных мембран и липопротеинов / Г. Е. Добрецов. — М.: Наука, 1989. — 277 с.
6. Миллер, Ю. И. Использование флуоресцентного зонда в оценке связывающей способности сывороточного альбумина человека при печеночной недостаточности / Ю. И. Миллер // Лаб. дело. — 1989. — № 7. — С. 20–23.

Поступила 17.11.2010