УДК 612.015.348:612.119:616-001.1/8

ГРЕБЕНЮК Оксана Анатольевна

Ассистент кафедры патологической физиологии УГМА, кандидат биологических наук

Состояние аминокислотного обмена в кроветворной ткани при экстремальных воздействиях на организм

Моя первая встреча с Анатолием Петровичем состоялась в 1988 году, когда я впервые, еще будучи студенткой 3 курса биологического факультета УрГУ, пришла на кафедру патологической физиологии. Помню, как я волновалась, ожидая встречи с профессором, с именем которого была знакома лишь по монографиям и научным статьям. Только сейчас, уже по прошествии многих лет, я сумела оценить, насколько трогательно и внимательно Анатолий Петрович относится к молодежи, какую роль отводит научным традициям и преемственности поколений. Ведь мне, тогда еще неопытному исследователю, было доверено самостоятельно изучить состояние коры надпочечников желтобрюхих леммингов в условиях действия холодового стресса. Мне посчастливилось выполнять дипломную работу в созданной под руководством академика Ястребова А.П. лаборатории «Проблем адаптации...» в блестящей команде его учеников. В дальнейшем, в диссертационной работе, выполненной под руководством академика РАЕН, профессора, д.м.н. Ястребова А.П., было продолжено изучение роли метаболических факторов в регуляции гемопоэза в условиях действия экстремальных факторов. В результате проведенных исследований концепция академика Ястребова А.П. о возможности изменения пролиферативного потенциала кроветворной ткани под влиянием различных метаболических факторов получила подтверждение и для некоторых аминокислот. За все годы работы на кафедре патологической физиологии я ощущала постоянную поддержку со стороны Анато-

лия Петровича и веру в мои силы. Я чрезвычайно благодарна всем обстоятельствам моей судьбы, которые позволили мне встретиться с таким выдающимся ученым и замечательным человеком — моим Учителем.

Среди механизмов регуляции гемопоэза важное место занимает метаболическая регуляция кроветворения. Для клеток костного мозга существует свой оптимум состава межклеточной среды для пролиферации, дифференцировки и созревания. Изменение состава экстрацеллюлярной жидкости костного мозга создает благоприятные условия для пролиферации того или иного ростка, подавляя другие. В условиях in vitro, благодаря изменениям концентрации АК в составе культуральной среды, можно достичь эффекта от снижения пролиферативного потенциала и жизнеспособности клеток до дифференцировки их по определенному пути. Т.о., можно полагать, что метаболиты играют чрезвычайно важную роль в механизмах регуляции гемопоэза в экстремальных условиях, когда чувствительность кроветворной ткани к гуморальным индукторам существенно возрастает [15, 16, 17, 26].

Имеющиеся в литературе данные об изменении АК обмена при действии экстремальных факторов на организм касаются, главным образом, изучения АК состава крови [2, 6, 7, 9, 10, 18, 19, 21, 23] и лишь в единичных работах охарактеризован АК спектр костного мозга,но без дифференцированного анализа содержания АК в костномозговой жидкости и миелокариоцитах [12, 24]. Между тем изменение АК спектра в плазме крови при экстремальных воздействиях является отражением нарушений метаболизма во многих органах и тканях, и эти данные могут быть лишь весьма ограниченно использованы при заключении об участии АК в механизмах гемопоэза. В этой связи изучение АК обмена в миелокариоцитах и костномозговой жидкости дает более важную информацию об изменениях АК состава гемопоэзиндуцирующего микроокружения при экстремальных воздействиях, что позволяет более обоснованно говорить об участии АК в механизмах регенерации крови.

Все вышеизложенное определило цель исследования: охарактеризовать состояние аминокислотного обмена в кроветворной ткани при экстремальных воздействиях, сопровождающихся изменением

гемопоэза. В соответствии с этим были поставлены следующие задачи:

1. Изучить аминокислотный состав костного мозга (миелокариоцитов, экстрацеллюлярной жидкости) и плазмы крови в различные сроки после действия нитрата кобальта и ионизирующего облучения на организм.

2. На основании изменений аминокислотного спектра костного мозга и плазмы крови предложить использование отдельных аминокислот или их смесей для коррекции аминокислотного метаболизма и оптимизации процессов регенерации кроветворной ткани при действии экстремальных факторов.

3. Исследовать действие природных растительных адаптогенов на аминокислотный состав костного мозга в условиях хронического облучения в «малых» дозах.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на 242 половозрелых крысах-самцах породы Wistar, массой от 150 до 200 г.

В качестве экстремальных воздействий, вызывающих возмущение гемопоэза, использовали нитрат кобальта и внешнее облучение.

Нитрат кобальта вводили внутрибрюшинно из расчета 3 мг/кг веса в 2 режимах: остром и хроническом. При остром воздействии нитрат кобальта вводили однократно, при хроническом ежедневно, в течение 7 дней.

Внешнее облучение осуществляли от цезиевого источника на установке ИГУР-1 в двух режимах [4]. Первую группу составили животные, облученные однократно в поглощенной дозе 2 Гр. Животных второй группы облучали по 0,5 Гр с интервалом в 5 дней до получения суммарной поглощенной дозы 2 Гр.

На основании изучения изменений аминокислотного состава плазмы крови, костномозговой жидкости и миелокариоцитов, в процессе 7-кратного действия нитрата кобальта, были выбраны аминокислоты, которые, по нашему мнению, могли повлиять на течение гемопоэза. В условиях хронического действия нитрата кобальта, на протяжении всего периода его введения, экспериментальные животные получали внутримышечные инъекции смеси аминокислот

(pH=7,3–7,4), включающей аспартат (30 мг/кг), глутамат (120 мг/кг), аргинин (120 мг/кг) [1, 3, 13].

В процессе хронического действия ионизирующего излучения, в связи с «малой» [11] используемой дозой, в качестве препаратов, способных изменить состояние аминокислотного обмена и течение регенераторных процессов в костномозговой ткани, использовали экстракты родиолы розовой (в виде 0,25% суспензии) и чаги (2,5% суспензии) [5]. Указанные препараты вводили внутрижелудочно через зонд, ежедневно, в течение 30 дней от начала облучения, из расчета 2 мл на 200 г веса животного.

Для характеристики состояния гемопоэза определяли содержание в крови эритроцитов, ретикулоцитов, гемоглобина, лейкоцитов,а также подсчитывали лейкоцитарную формулу и клеточность костного мозга.

Состояние аминокислотного (АК) обмена в кроветворной ткани оценивали методом ионообменной хроматографии [8] с помощью автоматического анализатора аминокислот ААА-339М.

Аминокислотный пул определяли в 3-х биологических средах организма: плазме крови, костномозговой жидкости и миелокариоцитах. Подготовку образцов к исследованию проводили по стандартной методике, включающей добавление к исследуемой жидкости 50% сульфосалициловой кислоты, 7% гидроксида лития и норлейцина (2,5 мкмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта [20, 22, 25]. Для каждой исследуемой жидкости на хроматограмме прописывали весь спектр свободных аминокислот. Расшифровку хроматограммы проводили на основании идентификации полученных пиков со стандартным раствором аминокислот. Концентрацию аминокислоты в плазме крови выражали в мкмоль/л, для костномозговой жидкости и миелокариоцитов в нмоль/млн клеток. Кроме того, рассчитывали суммарные концентрации:

1) незаменимых АК,
2) заменимых АК,
3) протеиногенных АК,
4) гликогенных АК,
5) кетогенных АК (группа АцКоА),
6) АК с разветвленной углеводородной цепью (АКРУЦ): валин, лейцин, изолейцин,
7) ароматических АК (фенилаланин и тирозин).

Проводили анализ содержания отдельных аминокислот по месту включения их в ЦТК. На основании этого аминокислоты были подразделены на следующие группы:

1) группа пирувата (ПВК);
2) группа АцКоА;
3) группа оксалоацетата (ОА);
4) группа а-кетоглутарата (а-КГ);
5) группа сукцинил КоА.

Математическую обработку полученных результатов осуществляли на ЕС-1061 по стандартным пакетам программ. Определяли стандартные эмпирические статистики (среднее, дисперсию, коэффициент вариации). Для определения количественных связей между изучаемыми признаками использовали метод корреляционного анализа (коэффициент корреляции Пирсона).

Результаты исследований и их обсуждение

На протяжении всего периода после однократного действия нитрата кобальта отмечается снижение суммарной концентрации свободных аминокислот плазмы, среди которых наиболее всего снижалось содержание следующих метаболических групп: ПВК, а-кетоглутарата и оксалоацетата. Данные изменения следует рассматривать, как компенсаторную реакцию, направленную на усиление притока субстратов к ЦТК для адекватного энергообеспечения различных тканей в условиях энергодефицита, развивающегося при гипоксии.

При этом на протяжении первых часов после однократного действия нитрата кобальта суммарная концентрация свободных АК в костномозговой жидкости и миелокариоцитах поддерживалась в пределах нормальных величин. На 24—48 часов суммарная концентрация свободных АК в костно-мозговой жидкости и миелокариоцитах снижалась (*рис. 1*), что связано с повышением функциональной активности костного мозга и усиленным потреблением аминокислот миелокариоцитами из экстрацеллюлярного пространства и дальнейшим использованием в синтетических процессах.

Снижение суммарной концентрации свободных АК в миелокариоцитах на 24—48 часов происходило практически за счет всех изученных метаболических групп аминокислот (*рис. 1*). Так, наблю-

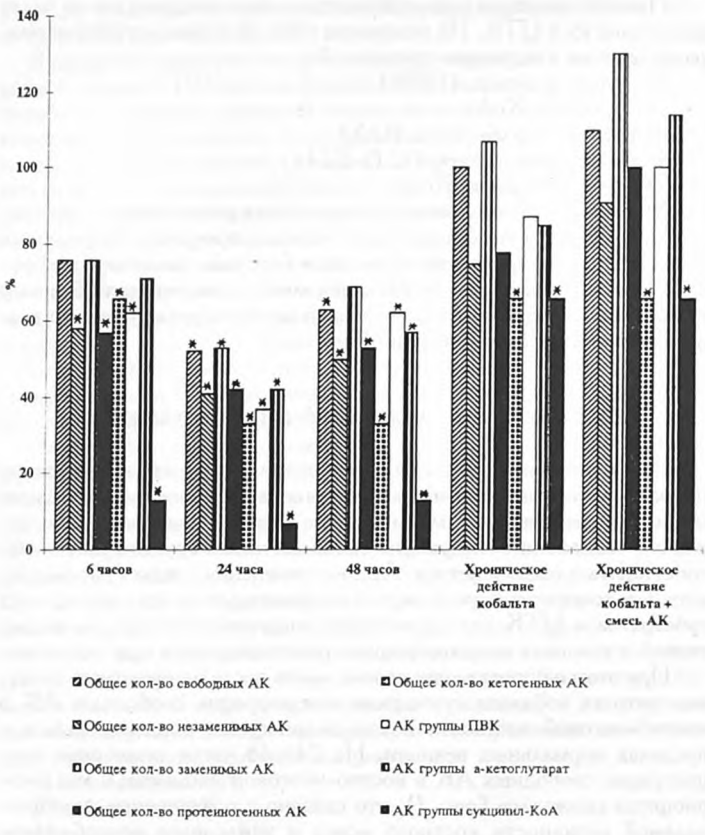

Рис. 1. Содержание различных групп свободных АК в миелокариоцитах при однократном и хроническом действии нитрата Co и на фоне использования АК смеси (в % от контроля, принятого за 100%), * $P \leq 0{,}05$—$0{,}001$

далось снижение концентрации протеиногенных АК, кетогенных АК, АК группы ПВК, а-кетоглутарата, сукцинил КоА, а также заменимых и незаменимых АК. Таким образом, усиленная пролиферация эритроидного ростка костного мозга, индуцированная однократным действием кобальта, сопровождалась снижением суммарной концентрации свободных АК различных метаболических групп в миелокариоцитах на фоне более стабильного их поддержания в костномозговой жидкости. Наибольший дефицит костно-мозговая ткань испытывала в незаменимых и кетогенных АК. Возможно, что в условиях гистотоксической гипоксии, субстратами окисления в костномозговой ткани могут быть не только жиры и кетокислоты, но также и такие ценные субстраты, как аминокислоты.

При 7-кратном введении нитрата кобальта активность эритропоэза существенно возрастала, о чем свидетельствует значительный ретикулоцитоз в периферической крови.

При анализе отдельных метаболических групп АК в костномозговой жидкости отмечено сохранение концентрации большинства из них в пределах нормы на фоне снижения их концентрации в миелокариоцитах (особенно кетогенных АК и АК группы сукцинил КоА) (*рис. 1*).

Таким образом, при исследовании АК фонда костного мозга в условиях однократного и хронического действия нитрата кобальта установлено, что повышение его пролиферативной активности протекает при дефиците некоторых АК. В этой связи представлялось интересным выяснить, не влияет ли наблюдаемый дисбаланс на характер гемопоэза в этих условиях. Учитывая вышесказанное, было решено вводить внутримышечно смесь из 3 АК (глутамата, аспартата, аргинина), снижение концентрации которых отмечалось в нашем эксперименте.

При использовании АК смеси в условиях 7-кратного действия нитрата кобальта отмечали более значительное по сравнению с острым действием кобальта повышение количества ретикулоцитов в периферической крови и тенденцию к увеличению клеточности костного мозга. Данные изменения свидетельствуют о том, что дополнительное поступление субстратов с аминокислотной смесью усиливает регенераторный ответ костного мозга.

Концентрация отдельных метаболических групп свободных АК в костномозговой жидкости при использовании АК смеси в условиях хронического действия кобальта повышалась по сравнению с группой без ее использования. Так, отмечалось повышение концентрации АК группы а-КГ на 40,7% ($P \leq 0,001$), группы ПВК на 66% ($P \leq 0,05$), сукцинил-КоА до уровня контрольных значений. Все это свидетельствовало о более полном АК обеспечении костного мозга в условиях введения АК смеси по сравнению с хроническим действием кобальта без ее использования.

Концентрация отдельных метаболических групп свободных АК в миелокариоцитах при использовании АК смеси не отличалась от контрольных значений, за исключением сниженного содержания кетогенных АК и сукцинил КоА (*рис. 1*).

Таким образом, использование АК смеси в условиях хронического введения нитрата кобальта способствует поддержанию концентрации отдельных АК и их метаболических групп в миелокариоцитах на уровне контрольных значений, а в костномозговой жидкости незначительно превышая их. Это свидетельствует, по нашему мнению, о том, что дополнительное поступление субстратов с АК смесью усиливает регенераторный ответ костного мозга.

Среди разнообразных экстремальных факторов ионизирующее излучение до сих пор привлекает к себе пристальное внимание исследователей. В остром опыте животных облучали однократно в дозе 2 Гр. Анализ полученных результатов показал, что на протяжении всего периода после облучения (30 сутки включительно) сохраняется анемия, ретикулоцитоз, лимфопения,сдвиг лейкоформулы влево, поддерживается на низком уровне клеточность костного мозга.

На первые сутки после облучения отмечается снижение концентрации: серина, глутамата, глицина, валина, цистеина, лейцина, фенилаланина и аргинина в плазме. Повышение концентрации отмечено для тирозина и таурина. Повышение концентрации таурина в плазме на 1 сутки (на 30,2%, $P \leq 0,05$) является ранней дозозависимой реакцией на действие ионизирующей радиации и обусловлено деструкцией радиочувствительных тканей. Наблюдаемая гипертауринемия сопровождалась максимальной лейкопенией, лимфопенией, снижением клеточности костного мозга.

Суммарная концентрация свободных АК и их метаболических групп в костномозговой жидкости после однократного облучения

Состояние аминокислотного обмена в кроветворной ткани при экстремальных воздействиях на организм

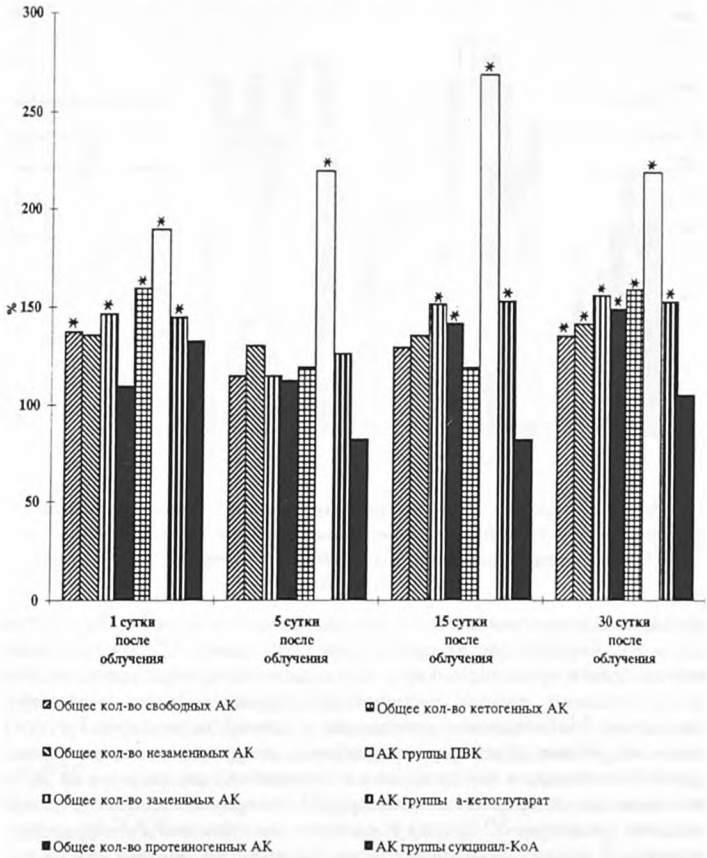

Рис. 2. Содержание различных групп свободных АК в костномозговой жидкости в различные сроки после однократного облучения в дозе 2 Гр (в % от контроля, принятого за 100%), * — $P \leq 0{,}05$—$0{,}001$

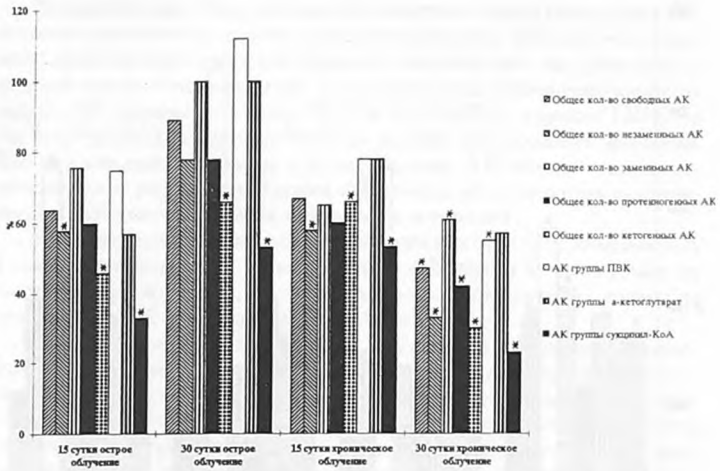

Рис. 3. Содержание различных групп свободных АК в миелокариоцитах на 15—30 сутки в режимах «острого» и «хронического» облучения (в % от контроля, принятого за 100%), * — $P \leq 0{,}05$—0,001

превышала контрольные значения, наиболее всего на 1 и 30-е сутки (*рис. 2*). Повышение концентрации свободных АК костномозговой жидкости происходило за счет таурина, аспартата, треонина, серина, глутамина, валина, цистеина, изолейцина, лейцина, тирозина и гистидина. Наблюдаемые изменения в ранний период (на 1 сутки) после облучения обусловлены массовым разрушением миелокариоцитов (клеточность костного мозга снижается при этом на 75%) и выходом их содержимого в экстрацеллюлярную среду, а в более поздние сроки (на 30 сутки) усилением поступления АК из циркулирующей крови. Повышение концентрации свободных АК в костномозговой жидкости, скорее всего, следует расценивать как благоприятное метаболическое условие,так как на этом фоне клеточность костного мозга повышалась на 95,5% по сравнению с первыми сутками облучения.

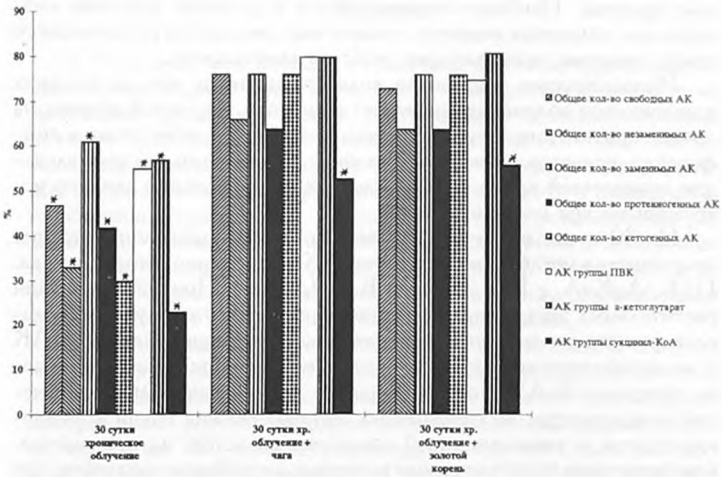

Рис. 4. Содержание различных групп свободных АК в миелокариоцитах на 30 сутки хронического облучения на фоне использования природных растительных экстрактов — золотого корня и чаги (в % от контроля, принятого за 100%), * — $P \leq 0{,}05$—$0{,}001$

Наряду с этим концентрация АК в миелокариоцитах была сниженной (*рис. 3*). Возможно, что снижение концентрации указанных АК в миелокариоцитах в поздний период (15—30 сутки) лимитирует гемопоэз в данных условиях.

Хроническое облучение сопровождается менее значительными изменениями гематологических показателей, чем острое. Что касается АК, то содержание большинства из них в крови, костномозговой жидкости и клетках снижалось. Интересно, что на фоне сниженной концентрации АК в миелокариоцитах (*рис. 3*) клеточность костного мозга поддерживалась в пределах нормы. Очевидно, это свидетельствует об усиленном включении АК в синтетические процессы, индуцируемые действием «малой» дозы ионизирующего излучения.

С целью защиты кроветворной ткани от повреждающего действия внешнего ионизирующего излучения применяют разнообраз-

ные средства. Наиболее перспективным в условиях действия «малых» доз облучения является применение препаратов растительного происхождения, проявляющих свойства адаптогенов.

Использование экстрактов золотого корня и чаги в условиях хронического облучения оказывает заметный защитный эффект на кроветворную ткань, снижая степень постлучевой лейкопении и лимфопении, повышая уровень гемоглобина. Однако полной нормализации показателей крови в этих условиях не происходит даже по истечении месяца после облучения.

На 30 сутки от начала хронического облучения концентрация большинства метаболических групп АК миелокариоцитов снижена: ПВК, АцКоА, а-КГ, сукцинил КоА (*рис. 4*). При использовании растительных экстрактов в условиях хронического облучения в миелокариоцитах отмечалось повышение концентрации указанных АК и их метаболических групп до уровня контрольных значений (кроме сукцинил КоА). Нормализация до уровня контрольных значений концентрации АК различных метаболических групп в миелокариоцитах и костномозговой жидкости является, на наш взгляд, благоприятным метаболическим условием, способным обеспечить при этом регенерацию. Зарегистрированная более полная субстратная обеспеченность костного мозга позволяет поддержать его пролиферативный потенциал на высоком уровне, тогда как формирующийся при хроническом облучении дефицит отдельных АК, возможно, является лимитирующим фактором, тормозящим регенераторные процессы в костномозговой ткани в этих условиях.

При сравнении групп с использованием золотого корня или чаги на фоне хронического облучения достоверных различий между ними по гематологическим показателям и АК составу исследуемых жидкостей не выявлено, что позволяет предположить существование единого механизма их действия.

Таким образом, проведенные исследования позволили качественно и количественно оценить состояние АК обмена в кроветворной ткани при экстремальных воздействиях на организм и дали основание для заключений о возможном влиянии его изменений на характер гемопоэза. Полученные данные о возможности коррекции гемопоэза в экстремальных условиях посредством изменения АК спектра кроветворной ткани могут быть использованы для поиска гемопоэзиндуцирующих факторов в условиях различной патологии системы крови.

Выводы

1. При действии нитрата кобальта и ионизирующего излучения в кроветворной ткани происходит перестройка азотистого метаболизма, проявляющаяся количественными сдвигами аминокислотного состава плазмы крови, костномозговой жидкости и миелокариоцитов. В условиях действия экстремальных факторов вклад аминокислот в реакции энергетического и пластического обменов возрастает, о чем свидетельствует усиленное их расходование костномозговой тканью для адекватного обеспечения процессов пролиферации и дифференцировки. Наблюдается перераспределение аминокислотных фондов между плазмой крови, костномозговой жидкостью и миелокариоцитами.

2. На основании проведенного анализа изменений содержания отдельных аминокислот в плазме крови, костномозговой жидкости и миелокариоцитах, в условиях усиленной пролиферации эритроидного ростка при однократном введении нитрата кобальта, выделены АК, концентрация которых во всех трех исследуемых средах снижена, вследствие чего они способны лимитировать гемопоэз: аспартат, глутамат, пролин, глицин, аланин, валин, лейцин, аргинин.

3. В сравнении с однократным действием кобальта при его хроническом введении в костном мозге отмечается более экономное расходование свободных аминокислот в различных метаболических процессах. Незначительный дефицит, в процессе индуцированного 7-кратным действием кобальта эритропоэза, миелокариоциты испытывали в цистеине, изолейцине, фенилаланине и аргинине, а также в аминокислотах группы АцКоА и сукцинил КоА, на фоне поддержания их концентрации (кроме сукцинил КоА) в пределах контрольных значений в костномозговой жидкости.

4. Использование аминокислотной смеси (аспартат, глутамат, аргинин) в условиях хронического действия нитрата кобальта способствует более полному обеспечению костного мозга аминокислотами, поддерживая концентрацию отдельных аминокислот и их метаболических групп в миелокариоцитах на уровне контрольных значений, а в костномозговой жидкости выше их, что обеспечивает дополнительную субстратную стимуляцию эритропоэза, проявляющуюся в виде прироста ретикулоцитов периферической крови.

5. Наиболее значительно на 1 сутки после однократного облучения снижалась концентрация аспартата, валина, цистеина, изолейцина, лейцина, гистидина, аргинина в миелокариоцитах и поддерживалась на сниженном уровне вплоть до 30 суток на фоне повышения их содержания в экстрацеллюлярной среде и снижения в плазме. Данное перераспределение аминокислот на фоне частичного восстановления клеточности костного мозга свидетельствует об активном их использовании в процессах гемопоэза, а их низкий уровень в миелокариоцитах следует рассматривать как один из факторов, лимитирующих гемопоэз в этих условиях.

6. В условиях хронического облучения отмечается снижение концентрации отдельных АК и их метаболических групп в костномозговой жидкости и миелокариоцитах (незаменимых, заменимых, группы сукцинил-КоА, ПВК, а-КГ), а при введении природных растительных экстрактов чаги и золотого корня повышение их концентрации до уровня контрольных значений, что является благоприятным метаболическим условием, способствующим более эффективному восстановлению гемопоэза.

Литература

1. *Базарный В.В., Осипенко А.В.* Аспарагиновая кислота — регулятор гемопоэза. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1992. — № 9. — С.293-294.

2. *Безкровная Л.А., Костеша Н.Я.* Изучение диагностической ценности состояния тауринурии в ранние сроки после облучения животных. // Мед. радиология. — 1990. — № 3. — С. 23-25.

3. *Белокрылов Г.А., Попова О.Я., Деревнина О.Н., Молчанова И.В.* Неоднозначность действия больших и малых доз аминокислотных препаратов на иммунный ответ и фагоцитоз у мышей. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1994. — Т. CXVII, № 5. — С. 500-501.

4. *Белоусова О.И., Горизонтов П.Д., Федотова М.И.* Радиация и система крови. — М.: Атомиздат, 1979. — 128 с.

5. *Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Агафонов В.И.* и др. Принцип создания лекарственных препаратов стимуляторов кроветворения природного происхождения. // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1995. — Т.58, № 1. — С. 3-7.

6. *Довганский А.П., Курцер Б.М., Зорькина Т.А.* Печень при экстремальных состояниях. — Кишинев: Штиинца, 1989. — 136 с.

7. *Западнюк В.И., Купраш Л.П., Заика М.У.* и др. Аминокислоты в медицине. — Киев: Здоров я, 1982. — 200 с.

8. *Казаренко Т.Д.* Ионообменная хроматография аминокислот. — Новосибирск: Наука, 1975. — 136 с.

9. *Кобылянский Л.Н.* Метаболизм аминокислот при травме. — Кишинев.: Штиинца, 1978. — 124 с.

10. *Коннова Л.А., Новосеслова Г.С.* Изменение обмена таурина и триптофана после комбинированного радиационно-термического поражения. // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 1986. — № 6. — С. 53-56.

11. *Кузин А.М.* Проблема малых доз и идеи гормезиса в радиобиологии. // Радиобиология. — 1991. — Т. 31, в.1. — С. 16-21.

12. *Курцер Б.М., Довганский А.П.* Изменение аминокислотного состава кроветворных органов при комбинированной ожогово-лучевой травме. // Здравоохранение Кишинева. — 1980. — № 3. — С. 25-26.

13. *Милютина Н.П., Ананян А.А., Шугалей В.С.* Антирадикальный и антиоксидантный эффект аргинина и его влияние на активность перекисного окисления липидов при гипоксии. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. — 1990. — № 9. — С.263-265.

14. *Рудзит В.К.* Триптофан (в норме и патологии). — Л.: Медицина, 1973. — 168 с.

15. *Чертков И.Л., Гуревич О.А.* Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. М.: Медицина, 1984. — 240 с.

16. *Ястребов А.П., Юшков Б.Г., Большаков В.Н.* Регуляция гемопоэза при воздействии на организм экстремальных факторов. — Свердловск: УрО АН СССР, 1988. — 152 с.

17. *Ярцев Е.И., Гольдберг Е.Д., Колесников Ю.А.* и др. Таурин (фармакологические и противолучевые свойства). — Томск.: Изд-во ТГУ, 1975. — 160 с.

18. *Al-Bekairi A.M.* Effect of hypoxia and/or cold stress on plasma and brain amino acids in rat // Res. Commun. Chem. Patol. Pharmacol. — 1989. — Vol. 64, N 2. — P. 287-297.

19. Amino acids in helth and disease (New perspectives) // UCLA symp. on molecular and cellular biology. — 1987. — Vol. 55, c. XVI. — 619 p.

20. *Briddon A., Oberholzer U.G.* An alternative way of presenting quantitative amino acid results // Clin. Chim. Acta. — 1987. — Vol. 164, N 2. — P. 209-213.

21. *Eddy Alan A.* The amino acids pumps of living cels // Science Progress. — 1981. — Vol. 67. — P. 245-270.

22. *James L.B.* Amino acid analysis: a fall-off in performance // J. Chromatogr. — 1987. — Vol. 408. — P. 291-295.

23. *Jschihara E.* The regulation of uptake and output amino acids by rat tissues // Advances in Enzyme Regulation. — 1976. — Vol. 14. — P. 117-136.

24. *Kiyotaka F., Tonofusa U.* Characteristic patterns of free amino acid content in plasma, erytrocytes, lymphocytes and granulocytes in man // Hyroshima J. Med. Science. — 1983. — Vol. 32, N 2. — P. 163-166.

25. *Sahai S., Uhlhaas S.* Stability of amino acids in human plasma // Clin.Chim.Acta. — 1987. — V. 164, N 2. — P.163-169.

26. *Tavassoli M.* Studies of hemopoietic microenviroments // Exp. Hemat. — 1973. — N 3. — P. 201-209.