

Т.Д. Четверикова, Л.С. Васильева, Л.О. Гуцол, Л.А. Украинская

КОРРЕКЦИЯ АРАБИНОГАЛАКТАНОМ НАРУШЕНИЙ СТРУКТУРЫ ПЕЧЕНИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГЕМОЛИТИЧЕСКОЙ АНЕМИИ*Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)*

При ежедневном пятикратном введении арабиногалактана в начальный период развития фенилгидразиновой анемии активируются обменные и пролиферативные процессы в печени, что приводит к более полному восстановлению структуры ткани печени после трех недель интоксикации.

Ключевые слова: гепатоциты, фенилгидразин, арабиногалактан

CORRECTION OF LIVER STRUCTURAL FAILURE BY ARABINO GALACTAN AT EXPERIMENTAL HEMOLYTIC ANEMIA

T.D. Chetverikova, L.S. Vasilieva, L.O. Gutsol, L.A. Ukrainskaja

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

Use of arabinogalactan 5 times a day every day at shakedown period of phenylhydrazine anemia activates exchange and proliferative processes in liver, what leads to more complete reconstruction of liver tissue structure after 3 weeks of intoxication.

Key words: hepatocytes, phenylhydrazine, arabinogalactan

В огромном многообразии вредных химических веществ гидразин и его производные занимают особое место. Благодаря высокой реакционной способности и ряду специфических свойств, они нашли широкое применение в производстве фармакологических средств, пестицидов, красителей и ракетного топлива [2]. Производное гидразина — фенилгидразин — является гемолитическим ядом, вызывающим повышение проницаемости мембран, набухание эритроцитов и их внутрисосудистое разрушение. Имеются данные о повреждении печени при фенилгидразиновой анемии, однако механизмы его полностью не раскрыты [1, 4, 12]. Одним из предполагаемых звеньев патогенного воздействия фенилгидразина на живой организм является активация процессов липопероксидации в клеточных мембранах [4, 13], в связи с чем антиоксидативная терапия является достаточно обоснованным принципом саногенеза подобного рода интоксикаций. Среди природных соединений, обладающих антиоксидантной активностью, внимание исследователей привлекает класс высокомолекулярных полисахаридов, к которым относится арабиногалактан. Арабиногалактан встречается в чистом виде и в форме гликопротеидов во многих растениях и, в частности, в лиственных деревьях нашего региона, и обладает рядом уникальных свойств, что делает его привлекательным для биологического мониторинга [5, 8, 9].

Целью исследования явилось изучение влияния арабиногалактана, полученного из лиственницы сибирской, на динамику повреждения ткани печени при экспериментальной гемолитической анемии.

МЕТОДЫ

Опыты выполнены на 54 беспородных белых крысах-самцах массой 180–200 г. Содержание, питание, уход и выведение из эксперимента соответствовали «Правилам проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденных приказом № 755 от 12.08.77. У животных вызывалась токсическая гемолитическая анемия путем внутримышечного введения солянокислого фенилгидразина по 3 мг/100 г массы тела в течение двух дней [1]. Половине из них через 6 часов после второго введения фенилгидразина и затем ежедневно в течение четырех дней внутримышечно инъецировался раствор арабиногалактана в дозе 20 мг/100 г массы, остальным — физиологический раствор. В пик анемии, а также через 1, 3, 5, 15 суток после него определялась концентрация гидроперекисей липидов (ГПЛ) по методу В.Б. Гаврилова и М.М. Мишкорудной [3] и малоновых диальдегидов (МДА) по методу И.Д. Стальной, Т.Г. Гаришвили [7] в печени и брались образцы ткани печени для морфологических исследований. Образцы ткани печени фиксировались в 10% нейтральном формалине и заливались в парафин. Срезы толщиной 7 мкм окрашивались гематоксилин-эозином (для обзорных морфометрических исследований), на ШИК-реакцию с контролем амилазой (для выявления гликогена в гепатоцитах) и по Перлсу (для выявления гранул гемосидерина) [6]. В паренхиме печени определялась объемная доля гепатоцитов, сосудов, очагов некроза, а также подсчитывалось процентное количество дистрофически измененных клеток, двуядерных гепатоцитов, измеряли размер гепатоцитов. Количество гликогена оценивалось в баллах по четырех-

Структурно-функциональная характеристика печени при отравлении фенилгидразином и введении арабиногалактана

	Показатели	Интактные крысы	Подопытные крысы				
			пик	1 сутки	3 сутки	5 сутки	15 сутки
ФГ	Доля сосудов, %, V	17,1 ± 0,96	26,16 ± 1,1*	9,52 ± 0,66*	6,49 ± 0,43*	9,04 ± 0,48*	8,26 ± 0,5*
	Доля некроза, %, V	0,81 ± 0,26	40,96 ± 1,98*	36,44 ± 2,35*	53,52 ± 1,87*	35,39 ± 3,8*	43,41 ± 2,63*
	Нормальные клетки, %	99,2 ± 0,25	52,5 ± 2,7*	60,2 ± 2,4*	22,6 ± 4,96*	59,7 ± 4,4*	44 ± 4,8*
	Баллонная дистрофия, %	0	0,52 ± 0,28	1,78 ± 0,44*	24,5 ± 4,45*	3,89 ± 1,38*	12,42 ± 2,86*
	ЦХИ гликогена	1,7 ± 0Д	1,4 ± 0,1	1,5 ± 0,1	0,4 ± 0,2*	1,3 ± 0,2	1 ± 0,1*
	Двуядерные клетки, %	10 ± 1,2	11,2 ± 1,1	12,2 ± 1,5	13,4 ± 0,7*	14,2 ± 1,04*	13,9 ± 1,3
	Клетки <13,5 мкм, %	18 ± 1,2	22,43 ± 3,3	23,8 ± 2,9	23,55 ± 1,4*	24,02 ± 2,8	21,48 ± 1,5
	Клетки среднего размера, %	65 ± 4,3	53,47 ± 2,8	51 ± 1,4*	36,65 ± 2*	45,48 ± 13,7	48,92 ± 2,3*
	Клетки > 18 мкм, %	18 ± 0,7	24,1 ± 4,1	25,2 ± 2,6*	39,8 ± 1,8*	30,5 ± 2,2*	29,6 ± 3,1*
	Гемосидерин	0,13 ± 0,04	3,7 ± 0,7*	4,8 ± 1,2*	3,3 ± 0,9*	2,86 ± 0,54*	1,34 ± 0,3*
ФГ + АГ	Доля сосудов, %, V	17,1 ± 0,96	9,3 ± 1,4**/	14,47 ± 1,01**/	12,72 ± 0,98**/	4,41 ± 1,46**/	24,67 ± 0,74**/
	Доля некроза, %, V	0,81 ± 0,26	48,43 ± 2,57*	37,68 ± 2,74*	27,75 ± 2,96**/	44,92 ± 1,82*	5,11 ± 1,55**/
	Нормальные клетки, %	99,2 ± 0,25	16,4 ± 4,2**/	59,76 ± 3,45*	66,93 ± 2,8**/	9,73 ± 2,7**/	94,9 ± 3,2**/
	Баллонная дистрофия, %	0	35,16 ± 4**/	1,13 ± 4,47	0,76 ± 0,29**/	45,35 ± 3,65*	0**/
	ЦХИ гликогена	1,7 ± 0,1	0,4 ± 0,1**/	1,4 ± 0,2	0,4 ± 0,2*	0,4 ± 0,2**/	1,2 ± 0,1**/
	Двуядерные клетки, %	10 ± 1,2	12,9 ± 1,9*	15,6 ± 1,4*	16 ± 1,9*	5,9 ± 1,2*	25 ± 1,1**/
	Клетки <13,5 мкм, %	18 ± 1,2	22,26 ± 3,6	27,37 ± 5,4	24,97 ± 2,6	25,06 ± 7,8	31,17 ± 1,2**/
	Клетки среднего размера, %	65 ± 4,3	33,44 ± 2**/	50,71 ± 4,2	52,84 ± 2,1**/	27,14 ± 2,1	53,78 ± 2,9
	Клетки > 18 мкм, %	18 ± 0,7	44,3 ± 0,4**/	21,92 ± 1,3*	22,19 ± 1,5**/	47,8 ± 3,5**/	15,05 ± 3
	Гемосидерин	0,13 ± 0,04	5,12 ± 0,84*	10,5 ± 1,25**/	6,67 ± 0,9**/	2,32 ± 0,7*	0,52 ± 0,08**/

Примечание: * – статистически значимое отличие показателей при введении АГ на фоне отравления ФГ от аналогичных значений у интактных крыс; ** – статистически значимое отличие показателей при введении АГ на фоне отравления ФГ от аналогичных значений у крыс при интоксикации ФГ.

балльной шкале (0, 1, 2, 3 балла), затем высчитывался цитохимический индекс по общепринятой формуле: ЦХИ = $(0 \times n_0 + 1 \times n_1 + 2 \times n_2 + 3 \times n_3) / (n_0 + n_1 + n_2 + n_3)$, где n_0, n_1, n_2, n_3 – количество гепатоцитов.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Нами было показано, что во все сроки интоксикации фенилгидразином (ФГ) наблюдается значительное повреждение печени, проявляющееся развитием баллонной дистрофии и некроза. При этом объемная доля некроза в динамике эксперимента изменяется от 35,4 до 53,5 % объема печеночной ткани (табл. 1). Максимальная степень альтерации гепатоцитов выявляется на 3 сутки. В патогенезе повреждения печени возможно участие нескольких механизмов: непосредственное действие токсина на клеточные структуры, активация свободно-радикального окисления, нарушение кровообращения в органе. Доказательством последнего является высокая степень корреляции ($r = -0,97$) между объемом капиллярного русла и выраженностью баллонной дистрофии.

Количественный рост гепатоцитов большого размера обусловлен набуханием клеток. Прослеживается прямая связь между количеством крупных клеток и клеток с баллонной дистрофией, выраженность которой сохраняется и концу наблюдений ($r = 0,9$). На основании этого можно считать, что начиная с 3 суток включаются репаративные процессы, что подтверждается увеличением числа молодых и двуядерных клеток.

Функция клеток Купфера при ФГ интоксикации сохраняется. Начиная с пика анемии и до 5 суток, эти клетки активно захватывают гемосидерин, содержание которого увеличено в 22 – 37 раз по сравнению с нормой. К 15 суткам количество гемосидерина в связи с прекращением гемолиза и активацией эритропоэза уменьшается, но к исходным величинам не возвращается.

При ежедневном пятикратном введении арабиногалактана (АГ) соответственно срокам развития гемолиза эритроцитов значения ГПЛ и МДА, и их соотношение не отличаются от нормальных величин (табл. 2).

Иными словами, в течение всего периода становления анемического синдрома наблюдается

Таблица 2

Концентрация продуктов перекисного окисления липидов в печени и их соотношение при интоксикации фенилгидразином и ведении арабиногалактана

Серия	Показатели	Интактные крысы	Подопытные крысы				
			пик	1 сутки	3 сутки	5 сутки	15 сутки
ФГ	ГПЛ	7,43 ± 0,9	17,5 ± 1,25*	19,5 ± 1,56*	14,2 ± 0,36*	16,2 ± 0,87*	12,9 ± 0,77*
	МДА	3,34 ± 0,6	6,65 ± 1,2	5,23 ± 0,23*	1,9 ± 0,05	7 ± 0,23*	2,24 ± 0,1
	ГПЛ/МДА	3,06 ± 0,74	2,87 ± 0,4	3,72 ± 0,2	7,6 ± 0,3*	2,3 ± 0,09	5,9 ± 0,44*
ФГ + АГ	ГПЛ	7,43 ± 0,9	9,15 ± 1,81**	9,21 ± 0,41**	10,42 ± 0,26**	9,04 ± 2,72	8,01 ± 0,84**
	МДА	3,34 ± 0,6	3,81 ± 0,44	4,42 ± 0,37	4,69 ± 0,42**	3,05 ± 0,17**	3,9 ± 0,8
	ГПЛ/МДА	3,06 ± 0,74	2,59 ± 0,77	2,14 ± 0,15**	2,31 ± 0,2**	2,81 ± 0,79	2,09 ± 0,28**

Примечание: * – статистически значимое отличие показателей при введении АГ на фоне отравления ФГ от аналогичных значений у интактных крыс; ** – статистически значимое отличие показателей при введении АГ на фоне отравления ФГ от аналогичных значений у крыс при интоксикации ФГ.

физиологическое течение процессов липопероксидации в печеночной ткани. По-видимому, АГ может быть адсорбентом ФГ, что приводит к ослаблению его стимулирующего действия на ПОЛ.

В пик анемии в сосудах печени формируется небольшой стаз. Капилляры сужены, их суммарный объем уменьшен в 1,8 раза по сравнению с интактными животными и в 3 раза меньше, чем у животных, не получавших АГ ($P < 0,05$). Как и в других сериях эксперимента, этот феномен связан с внутриклеточным отеком и развитием баллонной дистрофии. Объемная доля очагов некроза такая же, как и у крыс, которым АГ не вводился ($48,4 \pm 2,6 \%$), а число клеток с баллонной дистрофией даже больше ($35,2 \pm 4,5 \%$, $P < 0,05$). Появляется тенденция к увеличению числа двуядерных и молодых клеток. Уменьшается количество клеток среднего размера в 1,9 раза ($P < 0,05$). За счет внутриклеточного отека в 2,5 раза возрастает число крупных клеток ($P < 0,05$). В 4,3 раза падает значение ЦХИ, что может быть связано, с одной стороны с распространенным характером дистрофических и некротических процессов, с другой стороны – с сохранением способности клеток к утилизации гликогена ($P < 0,05$). Содержание гемосидерина увеличивается в 39,4 раза по сравнению с таковым у интактных животных ($P < 0,05$).

Следовательно, структурные изменения печеночной ткани в пик анемии в условиях пятикратного введения АГ аналогичны таковым у животных, которым АГ не вводился. В неповрежденных клетках сохраняется способность к утилизации гликогена, поэтому его содержание в печени уменьшено.

На 1 сутки после пика анемии в сосудах печени сохраняются застойные явления. Объем капиллярного русла увеличивается в 1,6 раз по сравнению с предыдущим сроком наблюдения, но меньше, чем у интактных крыс в 1,2 раза, что указывает на частичное восстановление кровотока и улучшение трофики клеток ($P < 0,05$). Резко уменьшается число гепатоцитов с баллонной дистрофией до $1,1 \pm 0,5 \%$ от объема ткани. В 1,3 раза уменьшается объем некротизированных участков ($P < 0,05$). В 1,5 раза по

сравнению с нормой возрастает число двуядерных и молодых, в 1,2 раза – больших гепатоцитов, в 1,4 раза уменьшается число клеток среднего размера ($P < 0,05$). Эти данные свидетельствуют о ранней стимуляции пролиферативных процессов. ЦХИ возрастает по сравнению с предыдущим сроком наблюдения в 3,5 раза и становится нормальным, что говорит о возобновлении ресинтеза гликогена ($P < 0,05$). Содержание гемосидерина выше в 2,2 раза, чем в аналогичный срок у крыс, не получавших АГ и в 81 раз больше, чем у интактных животных ($P < 0,05$).

Из этих данных следует, что при многократном введении АГ к 1 суткам после пика анемии интенсивность альтерации снижается, уменьшается доля некротизированных гепатоцитов. Возрастает число молодых и двуядерных клеток, что говорит об активации репаративных процессов. Устраняются явления баллонной дистрофии. Скорость ликвидации клеток с баллонной дистрофией говорит скорее не о замещении их новыми клетками, а о восстановлении обменных процессов в клетках и их внутриклеточной регенерации. Вследствие улучшения трофики и уменьшения числа поврежденных гепатоцитов возрастает количество клеток с нормальной гликогенной функцией. Более высокое содержание гемосидерина в печени позволяет предполагать стимуляцию АГ фагоцитарной функции клеток Купфера [5].

На 3 сутки после пика анемии в сосудах печени сохраняются застойные явления. Объем капиллярного русла такой же как и в предыдущий срок наблюдений и меньше нормы в 1,3 раза ($P < 0,05$). По сравнению с предыдущим сроком наблюдений в 1,4 раза уменьшается объем некротизированной ткани, который в 1,9 раза меньше по сравнению с этим показателем у крыс, не получавших АГ ($P < 0,05$). Число двуядерных, молодых и крупных клеток по-прежнему увеличено, клеток нормальных размеров – уменьшено ($P < 0,05$). Следовательно, восстановительные процессы осуществляются за счет активации пролиферативных процессов. ЦХИ вновь снижается в 3,5 раза по сравне-

нию с предыдущим сроком наблюдений и в 4,3 раза по сравнению с нормой ($P < 0,05$). Вероятно, это связано с высокой потребностью в энергии пролиферирующих и восстанавливающихся клеток. Содержание гемосидерина в 51,5 раз превышает норму и в 2 раза выше, чем в аналогичный срок у крыс, не получавших АГ ($P < 0,05$). Это подтверждает высказанное выше предположение о стимулирующем влиянии АГ на фагоцитарные функции макрофагов, тем более что по данным [7] в этот срок интенсивность гемолиза ослабевает.

Таким образом, в этот срок деструктивные процессы ослабевают, а пролиферативные протекают со стабильной скоростью и более эффективно, чем у крыс, которым не вводился АГ. Повышен расход гликогена, который, по-видимому, используется на активные восстановительные процессы.

К 5 суткам после пика анемии застойные явления в сосудах печени усиливаются. Диаметр капилляров вновь резко уменьшается в 3,2 раза по сравнению с предыдущим сроком и в 4 раза по сравнению с нормой ($P < 0,05$). Объем очагов некроза и количество клеток с баллонной дистрофией увеличивается и достигает тех же величин, что и в пик анемии. Количество мелких гепатоцитов превышает норму в 1,5 раза, т.е. в той же степени, что и на 1, 3 сутки, а число крупных клеток больше нормы в 2,6 раза и 2,1 раза больше по сравнению с предыдущим сроком наблюдений ($P < 0,05$). ЦХИ, как и в предыдущий срок, низкий ($P < 0,05$). Содержание гемосидерина уменьшается и превышает нормальный показатель в 18 раз ($P < 0,05$).

Таким образом, на пятые сутки формируется вторая волна повреждения ткани печени, проявляющаяся увеличением доли некротизированных гепатоцитов и клеток с баллонной дистрофией, уменьшением количества гликогенсинтезирующих клеток и, соответственно, содержания гликогена в печени. Проллиферативные процессы в этот срок не подавляются и остаются активными.

К 15 суткам кровоток восстанавливается в большинстве сосудов печени. Объем капиллярного русла увеличивается по сравнению с предыдущим сроком в 6 раз и по сравнению с нормой — в 1,4 раза ($P < 0,05$). Гепатоцитов с баллонной дистрофией не встречается, доля некротизированных клеток снижается до $5,1 \pm 1,6$ %, что в 9 раз меньше, чем в предыдущий срок, а также в аналогичный срок у крыс, которым АГ не вводился ($P < 0,05$). По сравнению с нормой число двуядерных гепатоцитов увеличивается в 2,5 раза, молодых — в 1,8 раз; количество больших клеток возвращается к исходным величинам ($P < 0,05$). ЦХИ возвращается к норме ($P < 0,05$). Содержание гемосидерина падает и превышает этот показатель у интактных крыс только в 4 раза ($P < 0,05$).

Следовательно, в условиях пятикратного введения АГ к 15 суткам после пика анемии в печени активируются пролиферативные и обменные процессы, что подтверждается увеличением доли неповрежденных гепатоцитов, смещением соотношения клеток различного размера в сторону пре-

обладания молодых и двуядерных, относительной нормализацией гликогенной функции печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Обсуждая полученные результаты, необходимо учесть специфичность действия ФГ и АГ. Хорошо известно, что для ФГ клетками-мишенями прежде всего являются эритроциты [4, 11], а для АГ — гепатоциты [9, 10]. АГ, вводимый вместе с ФГ и далее до наступления пика анемии, по-видимому, связывает его и тем самым предохраняет эритроциты от токсического действия ФГ. В то же время гепатоциты, к которым полисахарид обладает сродством, становятся клетками-мишенями для ФГ. Поэтому гепатотоксическое действие ФГ проявляется в пик анемии сильнее, чем без введения. Вместе с тем, альтерация печени развивается постепенно, и гепатоциты успевают воспользоваться резервными запасами гликогена для ранней стимуляции восстановительных процессов. В результате к 3 суткам дистрофические изменения исчезают, кровоток восстанавливается, и объем некроза уменьшается в 2 раза. В гепатоцитах, по-видимому, частично восстанавливается баланс между расщеплением и ресинтезом гликогена, что приводит к восстановлению его резерва. Положительное действие АГ отражается и на активации фагоцитоза и накоплении гемосидерина клетками Купфера, несмотря на значительно более низкий уровень гемолиза эритроцитов. Это согласуется с результатами исследований [5], которые указывают на способность АГ стимулировать фагоцитоз. По нашим данным, АГ обладает еще одним важным свойством — прямо или опосредованно стимулировать пролиферацию и внутриклеточную регенерацию гепатоцитов. К 5 суткам, вероятно, действие АГ прекращается, вновь возрастает степень дистрофии и некроза паренхимы печени, ухудшается капиллярный кровоток. Потребность клеток в энергии возрастает, и, соответственно, запасы гликогена уменьшаются. К завершающему этапу наблюдений структура паренхимы печени и гликогенсинтезирующая функция печени восстанавливаются, ЦХИ возвращается к норме, количество гемосидерина в печени уменьшается и нормализуется. Таким образом, несмотря на двухфазную динамику повреждения печени и нарушение ее функциональной активности, восстановительные процессы в условиях введения АГ протекают более полноценно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белокрыничкая Т.Е. Влияние полипептидов эритроцитов на систему эритрона при экспериментальной анемии / Т.Е. Белокрыничкая, Б.И. Кузник, В.Х. Хавинсон // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 1992. — Т. 114. — С. 132–133.
2. Биохимия гидразинол: Монография / Н.И. Портяная, В.В. Соколовский, Б.Г. Осибенко и др.; Под ред. Н.И. Портяной, Г.Г. Юшкова. — Ангарск: Изд-во Ангарской государственной технической академии, 2005. — 92 с.

3. Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б. Гаврилов, М.И. Мишкорудная // Лаб. дело. — 1983. — № 3. — С. 33–36.
4. Глутатион-зависимая антиоксидантная система у крыс в условиях острого отравления производными гидразина / С.А. Куценко, А.И. Карпищенко, В.А. Башарин и др. // Авиакосм. и экол. мед. — 2001. — Вып. 1. — С. 68–73.
5. Иммуномодулирующие свойства арабиногалактана лиственницы сибирской (*Larix sibirica L.*) / В.И. Дубровина, С.А. Медведева, Г.П. Александрова и др. // Фармация. — 2001. — № 5. — С. 26–27.
6. Меркулов Г.А. Курс патогистологической техники / Г.А. Меркулов. — Л.: Медицина, 1969. — 424 с.
7. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы биохимии; Под ред. В.Н. Ореховича. — М.: Медицина, 1977. — С. 66–68
8. Четверикова Т.Д. Эритроцитопротекторный эффект арабиногалактана при экспериментальной гемолитической анемии / Т.Д. Четверикова, Л.С. Васильева, О.В. Гаврилова // Сиб. мед. журнал. — 2004. — Т. 48, №7. — С. 39.
9. Arabimogalactan derivatives and uses there of / W. Jung Chu, P. Enriques, S. Palmacci et al. // Biotechol. Adv. — 1997. — N 1. — P. 246.
10. Arabinogalactan for hepatic drug delivery / E.V. Groman, P.M. Enriquez, W. Jung Chu et al. // Bioconjugate Che. — 1994. — N 5. — P. 547–556.
11. Horn S. Phagocytosis of phenylhydrazine oxidized and G-6PD-Deficient red blood cells: the role of cell-bound immunoglobulins / S. Horn, N. Bashan, J. Gopas // Blood. — 1991. — Vol. 78, N 7. — P. 1818–1825.
12. Release of free, redox-activ iron in the liver and DNA oxidative damage following phenylhydrazine intoxication / M. Ferrali, C. Signorini, L. Sugerini et al. // Biochem. Pharmacol. — 1977. — Issue 11. — P. 1743–1751.
13. The reaction of phenylhydrazine with microsomal cTochrome P-450 / H.G. Jonen, J. Werringloer et al. // The J. of Biological chemistry. — 1982. — Vol. 257, N 8. — P. 4404–4411.