

УДК 577.115:612.111.1

**СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РЕАКЦИИ ЭРИТРОЦИТОВ КРОВИ МОЛОДЫХ И СТАРЫХ КРЫС НА ИНТОКСИКАЦИЮ ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ ПРИ ВАГОТОМИИ**

**<sup>1</sup>Цибулевский А.Ю., <sup>1</sup>Дубовая Т.К., <sup>2</sup>Соколинский Б.З.**

<sup>1</sup>*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, e-mail: rsmu@rsmu.ru;*

<sup>2</sup>*ЗАО МЕКОС (медицинские компьютерные системы), Москва, e-mail: info@mecos.ru*

Исследовали изменения морфологических параметров эритроцитов в условиях острой интоксикации четыреххлористым углеродом у исходно интактных и ваготомированных крыс различного возраста. Установлено, что введение токсиканта сопровождается изменениями фактора формы эритроцитов, их поляризации, интегральной оптической плотности, содержания клеток с аномальным распределением оптической плотности, анизохромии, содержания деформированных эритроцитов. Степень выраженности и направленность изменений данных параметров в исследованных группах животных отличаются определенной спецификой, предположительно связанной с различиями фона (возраст, наличие очага денервации), на котором развивается ответная реакция эритрона на токсический агент.

**Ключевые слова:** эритроциты, интоксикация, четыреххлористый углерод, ваготомия, возраст

**A COMPARATIVE INVESTIGATION OF THE RESPONSE OF BLOOD ERYTHROCYTES OF YOUNG AND OLD VAGOTOMIZED RATS TO TETRACHLOROMETHANE INTOXICATION**

**<sup>1</sup>Tsibulevskiy A.Y., <sup>1</sup>Dubovaya T.K., <sup>2</sup>Sokolinskiy B.Z.**

<sup>1</sup>*N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, e-mail: rsmu@rsmu.ru;*

<sup>2</sup>*MECOS (medical computer systems), Moscow, e-mail: info@mecos.ru*

Changes in morphological parameters of the erythrocytes of originally intact and vagotomized rats of various age under the influence of acute tetrachloromethane intoxication have been studied. It has been shown that injections of tetrachloromethane was accompanied by changes in the shape of the erythrocytes, their polarization and their integral optical density, as well as in the content of cells with abnormal distribution of optical density, anisochromia and appearance of deformed erythrocytes. The degree of manifestation and character of changes of the above parameters in the investigated groups of animals exhibited certain specificity which can be explained by differences in the background conditions, such as age and presence of denervation foci, under which the response of the erythron to the toxic agent occurs.

**Keywords:** erythrocytes, intoxication, tetrachloromethane, vagotomy, age

Несмотря на многолетнюю историю исследования токсических состояний, вызванных попаданием в организм хлорированных углеводородов, некоторые аспекты, важные для понимания механизмов развития этих форм химической патологии, остаются малоизученными. Так, недостаточно исследованы закономерности морфофункциональных перестроек эритроцитов (Эр) при отравлении данными ксенобиотиками в отдаленный период онтогенеза. Учитывая мировую тенденцию к старению населения [12], разработка данного аспекта представляется весьма актуальной. Кроме того, определенный интерес представляет изучение особенностей реактивности системы крови (в частности, эритроидного ростка миелопоэза) в условиях денервационного синдрома. Это важно не только для углубления наших представлений о нейроцистротическом процессе как системном явлении, но и в связи с достаточно широким использованием перерезки нервных про-

дников при хирургических операциях [11]. Учитывая вышеизложенное, в настоящей работе мы поставили перед собой задачу изучить состояние Эр молодых и старых крыс в условиях острой интоксикации четыреххлористым углеродом (ЧХУ) на фоне ваготомии. Выбор данной экспериментальной модели был продиктован следующими обстоятельствами. Общеизвестно, что развитие и исход большинства форм химической патологии существенным образом зависит от кислородного статуса организма, который во многом определяется морфофункциональным состоянием Эр, их способностью эффективно связывать кислород и транспортировать его к органам и тканям [2]. Особое значение в этих условиях имеет кислородное снабжение органов детоксикации (печени, почек, кишечника, кожи), поскольку нейтрализация многих ксенобиотиков осуществляется посредством окислительных процессов [4]. Кроме того, следует учитывать вклад Эр в связывание ядов

и продуктов их биотрансформации и доставку данных субстратов к органам детоксикации и выделения [8]. Выбор ЧХУ в качестве токсиканта связан с его достаточно широким распространением в окружающей среде (применяется в различных областях народного хозяйства и ветеринарии) [14]. Кроме того, ЧХУ используется в экспериментальной практике для моделирования острого и хронического гепатита, различных форм токсических состояний и др. [10]. На ваготомии мы остановили свой выбор в связи с тем, что органосохраняющие операции, используемые для лечения язвенной болезни двенадцатиперстной кишки и желудка, часто сопряжены с пересечением блуждающих нервов или их ветвей [19].

### Материалы и методы исследования

Эксперименты проводили на 26 молодых (2 мес, масса 200–250 г) и 22 старых (20 мес, масса 450–500 г) белых крысах-самцах. Исследовали 8 серий животных: интактные (5 молодых и 6 старых); крысы, подвергнутые двусторонней поддиафрагмальной стволовой ваготомии (через 14 сут после операции – срок, когда морфофункциональные изменения в органах с нарушенной иннервацией выражены в наибольшей степени; 7 молодых и 5 старых); интактные крысы, получавшие ЧХУ (подкожно в дозе 3,2 г/кг в виде 50%-го масляного раствора; 6 молодых и 5 старых), ваготомированные животные, подвергнутые аналогичной заправке (8 молодых и 6 старых). Животных выводили из эксперимента через 24 час после заправки. Все животные перед выводом из опыта голдали на протяжении 16–18 час.

На неокрашенных мазках крови, фиксированных в парах формальдегида, с помощью компьютерной морфоденситометрии (на комплексе автоматизированной микроскопии МЕКОС-Ц2) определяли следующие морфологические характеристики Эр: диаметр, площадь, интегральную (показатель, отражающий количество гемоглобина в Эр) и удельную (показатель, отражающий концентрацию гемоглобина в Эр) оптическую плотность, поляризацию, фактор формы Эр, процентное содержание деформированных Эр и Эр с аномальным распределением оптической плотности.

Результаты представлены в виде средней арифметической величины и стандартной ошибки средней. Достоверность различий между экспериментальными и контрольными данными оценивали с помощью t-критерия Стьюдента. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием программы «Statistika 6.0».

### Результаты исследования и их обсуждение

Сравнительный анализ морфологических характеристик Эр молодых и старых интактных крыс выявил тенденцию к уменьшению у последних интегральной и удельной оптической плотности, значения анизоцитоза и анизохромии и увеличение значения поляризации Эр.

Интоксикация ЧХУ у исходно интактных молодых крыс сопровождается увеличением значения фактора формы Эр, содержания деформированных Эр и Эр с аномальным распределением оптической плотности и тенденцией к нарастанию значения их поляризации.

В условиях интоксикации ЧХУ у исходно интактных старых крыс отмечается увеличение значения анизохромии, а также более резко выраженное (по сравнению с молодыми животными) нарастание содержания деформированных Эр и Эр с аномальным распределением оптической плотности. Кроме того, выявлена тенденция к увеличению интегральной оптической плотности Эр.

Показано, что ваготомия у молодых крыс сопровождается увеличением площади Эр и тенденцией к нарастанию значений поляризации, анизохромии и содержания деформированных Эр и Эр с аномальным распределением оптической плотности.

Перерезка блуждающих нервов у старых крыс приводит к повышению фактора формы Эр и содержания деформированных Эр, а также сопровождается тенденцией к увеличению площади Эр, значений поляризации и интегральной оптической плотности.

Острая интоксикация ЧХУ у молодых ваготомированных крыс сопровождается увеличением содержания Эр с аномальным распределением оптической плотности, а также уменьшением значения анизохромии. Кроме того, выявлена тенденция к повышению содержания деформированных Эр и уменьшению значения анизоцитоза. Необходимо отметить, что у животных данной группы наряду с деструктивно-дистрофическими Эр обнаружены признаки компенсаторно-приспособительных перестроек, в частности увеличение интегральной оптической плотности Эр, отражающей, как указывалось выше, количество гемоглобина в них.

В условиях отравления ЧХУ у старых ваготомированных крыс выявлено уменьшение значения фактора формы Эр и более резко выраженное (по сравнению с молодыми животными) повышение содержания Эр с аномальным распределением оптической плотности. Наряду с этими изменениями наблюдалась отчетливая тенденция к снижению значения поляризации Эр и увеличению содержания деформированных Эр.

Подводя итог полученным результатам, можно констатировать, что процесс старе-

ния у крыс сопровождается уменьшением интегральной и удельной оптической плотности Эр и значения анизохромии, а также тенденцией к увеличению их среднего диаметра и площади. Эти данные согласуются с клинико-гериатрическими наблюдениями [9], что, по-видимому, отражает общую закономерность возрастных изменений красной крови у млекопитающих. Предполагают, что возрастные отклонения в системе крови связаны с инволюционными изменениями красного костного мозга, в развитии которых существенную роль играют такие факторы, как нарушение метаболизма железа, витаминов С и В<sub>12</sub>, фолиевой кислоты, снижение уровня синтеза трансферрина в печени, активация ингибиторов эритропоэза и др. [7]. Наряду с этим высказывается мнение о возрастзависимом сдвиге баланса активности антиоксидантной и прооксидантной систем организма в пользу последней [24]. Вместе с тем известно, что биомембраны, точнее, их основные структурообразующие компоненты – фосфолипиды, отличаются выраженной предрасположенностью к реакциям окисления, инициируемым свободными радикалами, так как содержат остатки ненасыщенных жирных кислот. Нефизиологическое усиление данного процесса имеет следствием дестабилизацию мембранных структур и нарушение их функций [17]. Считается, что это явление в отдаленный период онтогенеза приобретает генерализованный характер и в той или иной мере охватывает все органы и системы организма, в том числе систему крови. В пользу данного положения свидетельствуют результаты исследования [13], в котором показано, что введение старым крысам природного антиоксиданта альфа-токоферола приближает морфофизиологические показатели Эр (количество, объем, содержание и концентрация гемоглобина, геометрические параметры, процент патологических форм и др.) к уровню, характерному для молодых животных.

Выявленные в условиях ваготомии изменения морфологии Эр предположительно обусловлены следующими факторами. Так, патологическая импульсация с центральных концов перерезанных блуждающих нервов, вызывая раздражение соответствующих ядер гипоталамуса, может нарушать функционирование находящихся в той же области промежуточного мозга нервных центров, регулирующих гемопоэз. Правомочность данного предположения косвенно подтверждается результатами исследова-

ний, в которых производилось локальное раздражение различных ядерных структур гипоталамуса, что вызывало закономерные перестройки состояния красной крови [6]. Кроме того, следует учитывать, что в органах, находящихся в очаге денервации, существенно увеличивается количество тучных клеток [4], которые, как известно, активно продуцируют цитокины (интерлейкин-1, гамма-интерферон, фактор некроза опухоли), принимающие непосредственное участие в регуляции эритропоэза [21]. Попадая в общий кровоток и достигая красного костного мозга, данные гуморальные агенты могут оказывать определенное влияние на процесс кроветворения. Наряду с этим определенный вклад в развитие исследуемого патологического состояния может вносить «желудочный» фактор. Показано, что ваготомия сопровождается существенными структурно-функциональными изменениями париетальных клеток желудочных желез [23], которые продуцируют компоненты соляной кислоты и вырабатывают внутренний фактор Касла (соляная кислота необходима для эффективного усвоения железа, фактор Касла – витамина В<sub>12</sub>) [1]. Кроме того, ваготомия, как правило, сопровождается развитием гастростаза (длительный застой плотных пищевых масс в желудке) [15] в том числе и у крыс [16]. Вместе с тем, установлено, что раздражение механорецепторов желудка приводит к существенным количественным и качественным изменениям показателей красной крови [18].

В основе морфологических перестроек Эр, выявленных у животных, подвергнутых интоксикации ЧХУ, предположительно могут лежать следующие причины. Прежде всего, это непосредственное повреждение ферментных элементов крови ЧХУ, характеризующихся высокой липофильностью. Наряду с этим (и возможно, в большей степени) деструктивный эффект оказывают образующиеся в печени продукты биотрансформации ЧХУ – трихлорметильный свободный радикал, хлороформ, гексахлорэтан, карбонилхлорид и другие вещества, некоторые из которых обладают высокой реакционной способностью и могут вызывать целый ряд вторичных негативных эффектов. Так, установлено, что трихлорметильный радикал инициирует перекисное окисление липидов [25]. При этом следует учитывать, что Эр обладают повышенной чувствительностью к окислительному стрессу, так как их плазмалемма богата ненасыщенными жирными кислотами [17]. Активации свободно-

радикального окисления липидов в Эр также способствует высокая локальная концентрация кислорода, наличие ионов  $Fe^{2+}$  (играющих, как известно, ключевую роль в иницировании данного процесса), а также тот факт, что при окислении гемоглобина образуется супероксиданион-радикал [22]. Кроме того, необходимо иметь в виду, что ЧХУ и его метаболиты в той или иной степени оказывают повреждающее действие на все органы и системы, в результате чего в кровотоке поступает большое количество различных продуктов деструкции тканей [20]. Существенно, что в данных условиях отмечаются выраженные изменения липидного состава плазматической мембраны Эр, в частности увеличение содержания холестерина и снижение количества общих фосфолипидов. При этом спектр последних претерпевает значительную перестройку: удельная доля одних фосфолипидов нарастает (лизосфосфатидилхолина и др.), других – снижается (фосфатидилэтаноламина и др.). Кроме того, нарушается закономерная топография их определенных фракций в бислое мембраны – количество фосфолипидов с большей насыщенностью жирных кислот (фосфатидилхолина и сфингомиелина) во внешнем монослое повышается [5]. Эти факты, по мнению авторов, свидетельствуют об уменьшении жидкостных свойств и увеличении микровязкости липидного бислоя мембраны, ухудшении ее деформируемости и, как следствие, изменении геометрических и функциональных характеристик Эр.

### Заключение

Острая интоксикация ЧХУ у крыс приводит к закономерным изменениям морфологических характеристик Эр – фактора формы, поляризации, интегральной оптической плотности, содержания Эр с аномальным распределением оптической плотности, анизохромии, содержания деформированных Эр. Степень выраженности и направленность отклонений данных параметров в группах исходно интактных и ваготомированных животных различного возраста отличаются определенной спецификой, по всей видимости, связанной с различиями фона, на котором развивается ответная реакция эритрона на токсикант (возрастные изменения организма, наличие очага денервации).

### Список литературы

1. Алиев Б.М., Аруин Л.И., Габуня Р.И. Желудок // БМЭ. Т.8. – М.: Советская энциклопедия, 1978. – С. 92–141.

2. Голиков С.Н., Саночкин И.В., Тиунов Л.А. Общие механизмы токсического действия. – М.: Медицина, 1986. – 411 с.
3. Граник В.Г. Метаболизм экзогенных соединений. – М.: Вузовская книга, 2006. – 528 с.
4. Елецкий Ю.К., Цибулевский А.Ю., Сиротин А.И. Сравнительное исследование тонкой кишки при нарушении симпатической и парасимпатической иннервации // Морфология. – 1994. – № 7–12. – С. 100–116.
5. Есауленко Е.Е., Бачко С.С., Ладутько А.А., Быков М.И. Сравнительная биохимическая характеристика липидного спектра мембран эритроцитов при различных видах токсического поражения печени // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 7. – С. 54–56.
6. Канн Е.Л. Исследования структурно-функциональной организации процессов управления адаптивным поведением эритроцитарной части системы крови // Проблемы интерорецепции, регуляции физиологических функций и поведения. – Л.: Наука, 1976. – С. 71–91.
7. Кишкун А.А. Биологический возраст и старение: возможности определения и пути коррекции. – М.: ГЭО-ТАР-Медиа, 2008. – 976 с.
8. Куценко С.А. Основы токсикологии. – С-Пб.: Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, 2002. – 395 с.
9. Лапин А.Ю. Лабораторная диагностика в гериатрии // Лабораторная медицина. – 2003. – № 6. – С. 14–26.
10. Новочадов В.В., Полякова Л.В., Горячев А.Н. Гормональный статус крыс с хронической эндогенной интоксикацией // Фундаментальные исследования. – 2006. – № 5. – С. 96–97.
11. Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. Руководство для врачей. – МЕДпресс-информ, 2009. – 464 с.
12. Сапожникова Т.И. Демографическое старение: прогнозы, причины, последствия // Научный журнал Кубанской государственной академии управления. – 2007. – № 1. – С. 1–14.
13. Теплый Д.Д. Особенности морфофизиологических показателей эритроцитов белых крыс на этапах онтогенеза в норме и при оксидативном стрессе // Автореф. дис. канд. биол. наук. Астрахань: Астраханский государственный университет. – 2011. – 21с.
14. Трегер Ю.А. Стойкие органические загрязнители: проблемы и пути их решения // Вестник МИТХТ. – 2011. – № 5. – С. 87–97.
15. Хоромский Л.Н., Бенедикт В.В., Лейко И.К. и др. Коррекция функционального гастростаза после хирургического лечения язвенной болезни // Клиническая хирургия. – 1990. – № 8. – С. 40–42.
16. Цибулевский А.Ю., Дубовая Т.К., Эттингер А.П. Нейрогенные дистрофии тонкой кишки. – М.: РГМУ, 2005. – 215 с.
17. Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи современной биологии. – 2010. – № 6. – С. 587–602.
18. Черниговский В.Н., Шехтер С.Ю., Ярошевский А.Я. Регуляция эритропоэза. – Л.: Наука, 1967. – 101 с.
19. Albeldawi M., Qadeer M., Vargo J. Managing acute upper gastrointestinal bleeding, preventing recurrences // Cleveland clinic journal of medicine. – 2010. – V. 77. – P. 131–142.
20. Aranda M., Albendea A., Lostale F. et al. In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline // J Pineal Res. – 2010. – V. 49, № 1. – P. 78–85.
21. Bunn H. New agents that stimulate erythropoiesis // Blood. – 2007. – № 109. – P. 868–873.
22. Cimen M. Free radical metabolism in human erythrocytes // Clin. Chim. Acta. – 2008. – V. 390, № 1–2. – P. 1–11.
23. Helander H., Poorkhalkali N. Parietal cell density during gastric ulcer healing in the rat // Scand. J. Gastroenterol. – 2004. – V. 39, № 1. – P. 20–26.
24. Mehmetçik G., Ozdemirler G., Kanbagli O et al. Toker G., Uysal M. Age-related changes in plasma lipid peroxidation and antioxidant system in humans and rats // Arch. Gerontol. Geriatr. – 1997. – V. 25, № 3. – P. 305–310.

25. Yukiomi Nakade, Masashi Yoneda, Kimihide Nakamura et al. Involvement of endogenous corticotrophin-releasing factor in carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats // *Am. J. Physiol.* – 2002. – № 282. – P. 1782–1788.

### References

1. Aliev B.M., Aruin L.I., Gabuniya R.I. Zheludok // *BME. T.8. M.: Sovetskaya entsiklopediya*, 1978. pp. 92–141.
2. Golikov S.N., Sanotskiy I.V., Tiunov L.A. Obshchie mekhanizmy toksicheskogo deystviya. M.: Meditsina, 1986. 411 p.
3. Granik V.G. Metabolizm ekzogennykh soedineniy. M.: Vuzovskaya kniga, 2006. 528 p.
4. Eletskiy Y.K., Tsibulevskiy A.Yu., Sirotin A.I. Sravnitelnoe issledovanie tonkoy kishki pri narushenii simpaticheskoy i parasimpaticheskoy innervatsii // *Morfologiya*. 1994. no. 7–12. pp. 100–116.
5. Esaulenko E.E., Bachko S.S., Ladutko A.A., Bykov M.I. Sravnitel'naya biokhimiicheskaya kharakteristika lipidnogo spektra membran eritrotsitov pri razlichnykh vidakh toksicheskogo porazheniya pecheni // *Fundamentalnye issledovaniya*. 2011. no. 7. pp. 54–56.
6. Kann E.L. Issledovaniya strukturno-funktsionalnoy organizatsii protsessov upravleniya adaptivnym povedeniem eritrotsitarnoy chasti sistemy krovi // *Problemy interoretseptsii, regulyatsii fiziologicheskikh funktsiy i povedeniya*. L.: Nauka, 1976. pp.71–91.
7. Kishkun A.A. Biologicheskii vozrast i starenie: vozmozhnosti opredeleniya i puti kor-rektsii. M.: GEOTAR-Media, 2008. 976 p.
8. Kutsenko S.A. Osnovy toksikologii. S-Pb.: Voenno-meditsinskaya akademiya im. S.M. Kirova, 2002. 395 p.
9. Lapin A.Y. Laboratornaya diagnostika v geriatрии // *Laboratornaya meditsina*. 2003. no. 6. pp. 14–26.
10. Novochadov V.V., Polyakova L.V., Goryachev A.N. Gormonalnyy status krysa s khronicheskoy endogennoy intoksikatsiyey // *Fundamentalnye issledovaniya*. 2006. no. 5. pp. 96–97.
11. Popelyanskiy Y.Y. Bolezni perifericheskoy nervnoy sistemy. Rukovodstvo dlya vrachev. MEDpress-inform, 2009. 464 p.
12. Sapozhnikova T.I. Demograficheskoe starenie: prognozy, prichiny, posledstviya // *Nauchnyy zhurnal Kubanskoy gosudarstvennoy akademii upravleniya*. 2007. no. 1. pp. 1–14.

13. Teplyy D.D. Osobennosti morfofiziologicheskikh pokazateley eritrotsitov belykh krysa na etapakh ontogeneza v norme i pri oksidativnom stresse // *Avtoref. dis. kand. biol. nauk. Astrakhan: Astrakhanskiy gosudarstvennyy universitet*. 2011. 21 p.

14. Treger Yu.A. Stoykie organicheskie zagryazniteli: problemy i puti ikh resheniya // *Vest-nik MITKhT*. 2011. no. 5. pp.87–97.

15. Khoromskiy L.N., Benedikt V.V., Leyko I.K. i dr. Korrektsiya funktsional'nogo gastro-staza posle khirurgicheskogo lecheniya yazvennoy bolezni // *Klinicheskaya khirurgiya*. 1990. no. 8. pp.40–42.

16. Tsibulevskiy A.Y., Dubovaya T.K., Ettinger A.P. Neyrogennyye distrofii tonkoy kishki. M.: RGMU, 2005. 215 p.

17. Shishkina L.N., Shevchenko O.G. Lipidy eritrotsitov krovi i ikh funktsional'naya aktivnost' // *Uspekhi sovremennoy biologii*. 2010. no. 6. pp. 587–602.

18. Chernigovskiy V.N., Shekhter S.Y., Yaroshevskiy A.Y. Regulyatsiya eritropoeza. L.: Nauka, 1967. 101 p.

19. Albeldawi M., Qadeer M., Vargo J. Managing acute upper gastrointestinal bleeding, preventing recurrences // *Cleveland clinic journal of medicine*. 2010. V. 77. pp.131–142.

20. Aranda M., Albendea A., Lostale F. et al. In vivo hepatic oxidative stress because of carbon tetrachloride toxicity: protection by melatonin and pinoline // *J Pineal Res*. 2010. V. 49. no. 1. pp.78–85.

21. Bunn H. New agents that stimulate erythropoiesis // *Blood*. 2007. no. 109. pp.868–873.

22. Cimen M. Free radical metabolism in human erythrocytes // *Clin. Chim. Acta*. 2008. V. 390. no. 1–2. pp. 1–11.

23. Helander H., Poorkhalkali N. Parietal cell density during gastric ulcer healing in the rat // *Scand. J. Gastroenterol*. 2004. V. 39. no. 1. pp. 20–26.

24. Mehmetçik G., Ozdemirler G., Kanbagli O et al. Toker G., Uysal M. Age-related changes in plasma lipid peroxidation and antioxidant system in humans and rats // *Arch. Gerontol. Geriatr*. 1997. V. 25. no. 3: pp. 305–310.

25. Yukiomi Nakade, Masashi Yoneda, Kimihide Nakamura et al. Involvement of endogenous corticotrophin-releasing factor in carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats // *Am. J. Physiol*. 2002. no. 282. pp. 1782–1788.