ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 577.151.03:616.36 DOI: https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).11-15

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ФЕРМЕНТОВ ПРИ ТОКСИЧЕСКИХ ПОРАЖЕНИЯХ ПЕЧЕНИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д.С.Богдашов, Н.Н.Максимюк, И.А.Гридасов, Доссо Лассана

DETERMINATION OF THE STATE OF ENZYMES IN EXPERIMENT WITH TOXIC LIVER DAMAGES

D.S.Bogdashov, N.N.Maksimyuk, I.A.Gridasov, Dosso Lassana

Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого, nnm93@ya.ru

В связи с усилением антропогенного загрязнения окружающей среды особое значение приобрела проблема заболеваний химической этиологии. При острых отравлениях разными концентрациями токсических веществ именно поражение печени (печёночная недостаточность) более чем в 50% случаев является одним из частых осложнений многих патологических состояний, что усугубляет тяжесть течения интоксикации в целом. Клинические проявления хронического токсического повреждения печени обнаруживаются только у 30% больных, что может явиться причиной возникновения острых поражений гепатобилиарной системы и способствовать развитию хронических заболеваний. Особую важность приобретает проблема возможной хронизации патологического процесса у лиц, занятых на химическом производстве (профессиональные заболевания), и появлением у них комбинированных поражений печени. На фоне комбинированных поражений печени (например, этиловый спирт и CCl_4, хлороформ, этиленгликоль) может произойти выявление скрытого ранее генетически обусловленного дефекта биотрансформационной функции печени. Тяжесть токсического поражения печени зависит прежде всего от вида токсического вещества, его химической структуры, дозы и длительности его приёма, а также способа введения яда в организм. Эти факты определяют актуальность и значимость настоящего исследования.

Ключевые слова: гепатология, перекисное окисление липидов, фермент супероксиддисмутаза, токсическое поражение печени

Для цитирования: Богдашов Д.С., Максимюк Н.Н., Гридасов И.А., Доссо Лассана. Определение состояния ферментов при токсических поражениях печени в эксперименте // Вестник НовГУ. Сер.: Медицинские науки. 2022. №4(129). С.11–15. DOI: https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).11-15

In connection with the intensification of anthropogenic pollution of the environment, the problem of diseases of chemical etiology has acquired particular importance. In acute poisoning with different concentrations of toxic substances, it is liver damage (liver failure) in more than 50% of cases that is one of the frequent complications of many pathological conditions, which aggravates the severity of intoxication in general. Clinical manifestations of chronic toxic liver damage are found only in 30% of patients, which can cause acute lesions of the hepatobiliary system and contribute to the development of chronic diseases. Of particular importance is the problem of possible chronicity of the pathological process in individuals employed in chemical production (occupational diseases) and the appearance of combined liver lesions in them. Against the background of combined liver lesions (for example, ethyl alcohol and CCl_4, chloroform, ethylene glycol), a previously hidden, genetically determined defect in the biotransformation function of the liver may be revealed. The severity of toxic liver damage depends primarily on the type of toxic substance (its chemical structure), the dose and duration of its administration, as well as the method of introducing the toxin into the body. These facts determine the relevance and significance of the present study.

Keywords: hepatology, lipid peroxidation, superoxide dismutase enzyme, toxic liver damage

For citation: Bogdashov D.S., Maksimyuk N.N., Gridasov I.A., Dosso Lassana. Determination of the state of enzymes in experiment with toxic liver damages. Vestnik NovSU. Issue: Medical Sciences. 2022. Vol.4(129). Pp.11–15. DOI: https://doi.org/10.34680/2076-8052.2022.4(129).11-15

Введение

Большинство гепатотоксических веществ являются искусственно синтезированными химическими соединениями, не имеющими специфических путей детоксикации. Сложная химическая структура не всегда позволяет сразу включить их в процессы конъюгации, которые в большинстве своём представлены реакциями ферментативного превращения при естественной детоксикации. При этом возникает опасность возможного усиления токсического эффекта, так как ряд токсических метаболитов (аммиак, меркаптан, фенолы, производные пиррола) обладает выраженным гепатотропным действием и угнетает многие ферментные системы печени [1,2]. Но, независимо от происхождения, для всех гепатотропных

ядов характерно развитие широкого спектра дистрофических изменений гепатоцитов преимущественно с центролобулярной локализацией некрозов вплоть до острого массивного некроза паренхимы печени. При этом обычно страдает белковый и липидный обмен, что выражается в снижении содержания в крови протромбина, альбулина, β-липопротеидов, холестерина и фосфолипидов, а также в повышении концентрации билирубина и выходе в кровь многих ферментов, как специфических, так и неспецифических для печени [3]. Несмотря на то, что доля химических поражений печени в общей структуре заболеваний органа сравнительно невелика (2–3%), этиологическая роль химических веществ, число и разнообразие которых постоянно растёт, весьма значительна [4].

Решение целого ряда вопросов патогенеза тяжёлых форм поражения печения с формированием, в частности, острой печёночной недостаточности, белковой и жировой дистрофий печени, невозможно в условиях клиники из-за ограниченной пригодности клинического материала для детального изучения механизма и динамики развития патологического процесса в печени при токсическом поражении органа [3,5]. В связи с этим очевидна необходимость в создании адекватной экспериментальной модели на животных, что позволяет приблизиться к пониманию механизмов патогенеза заболеваний печени с учётом дозы, способа введения, химической структуры повреждающего агента, и открывает перспективы в создании новых лекарственных препаратов, используемых для лечения и профилактики заболеваний печени.

Целью нашей работы являлось экспериментальное изучение механизмов патологических процессов и гепатотоксического влияния различных ядов на состояние ферментов на модели лабораторных животных.

В ходе эксперимента повреждение печени вызывали у белых крыс-самцов линии «Вистар» массой 180–200 г, содержавшихся на стандартном рационе вивария. В качестве контроля использовались интактные животные, а также крысы, которые аналогичным способом получали воду. В каждой экспериментальной группе содержалось не менее 7 крыс. Животных декаптировали путём обескровливания под лёгким эфирным наркозом через 1, 3, 24, 48, 72 ч и 5 дней от начала эксперимента. Продолжительность хронического эксперимента составляла 2 месяца. Повреждение печени аллиловым спиртом (белковая дистрофия, некроз ткани печени, цитолиз) вызывали путём введения в желудок через зонд 1% водного раствора яда в дозе 1,0 мл (8,5 мг чистого аллилового спирта) на 100 г массы животного. Внутрибрюшинное введение солянокислого гидразина в дозе 0,3 мл на 100 г массы животного (5,4 мг чистого гидразина) приводило к формированию жировой дистрофии печени без выраженных некротических изменений и цитолитического синдрома. Внутримышечное введение CCl_4 в дозе 0,2 мл 80% CCl_4 на 100 г массы тела (255 мг чистого CCl_4), а также продолжительное (2 месяца) введение указанной дозы яда приводило к смешанным дистрофико-некротическим изменениям ткани печени. При пероральном введении 0,5 мл 50% этилового спирта на 100 г массы тела (250 мг чистого этанола) также наблюдалось формирование жировой дистрофии печени.

При исследовании ПОЛ в гомогенатах ткани печени крыс использовали спектроскопические методы, позволяющие определять содержание первичных — коньюгированных диенов (КД) — и вторичных — малонового диальдегида (МДА) — продуктов ПОЛ [6,7]. Параллельно исследовались активность аланинаминотрансферазы (АЛТ) в сыворотке крови крыс и активность Cu, Zn-супероксиддисмутазы (СОД) в цитозоле печени животных [7] с использованием нитротетразолиевого синего (НТС) в качестве перехватчика $\dot{O}^{-}2$- радикалов в системе ферментативного окисления ксантина в мочевую кислоту в присутствии ксантиноксидазы (КО). За единицу активности СОД принимали количество белка, которое вызывает 50%-е торможение реакции восстановления НТС в условиях определения. Содержание белка определяли по методу Лоури [8]. Полученные результаты обрабатывали общепринятым методом вариационной статистики [9].

Результаты и обсуждение

Проведенное исследование показало, что все изучаемые яды в той или иной степени стимулируют процесс ПОЛ и вызывают характерные морфологические изменения в ткани печени. Однако степень и характер стимуляции ПОЛ, как и механизм возникновения и развития изучаемых патологических процессов, у всех исследованных токсикантов разный (табл.1 и 2). Особенно это хорошо прослеживается в эксперименте с гидразином. Полученные результаты свидетельствуют о том, что прооксидантные свойства гидразина, как и молекулярный механизм действия яда, нельзя считать окончательно доказанными. Учитывая то, что процессы ПОЛ осуществляются не только при патологии, но и в нормальном физиологическом состоянии, можно предположить, что в самые ранние сроки действия гидразин может проявлять прооксидантные свойства. Как известно, супероксидные и гидроксильные радикалы могут оказывать инактивирующее действие на глутатионпероксидазу, специфично активирующую гидроперекиси [3,10]. Последнее становится понятным, если учесть, что процесс ПОЛ представляет собой важнейший путь участия молекулярного кислорода в метаболических реакциях клетки и связан с непосредственным внедрением активированного кислорода в окисляемое вещество [11]. Вследствие уникальных особенностей электронной структуры молекулы кислорода процесс её восстановления протекает ступенчатыми этапами с образованием активных и токсичных для клеток интермедиатов, таких как супероксидный анион-радикал ($\dot{O}^{-}_2$), синглетный кислород ($^1O_2$), перекись водорода (H_2O_2) и гидроксильный радикал ($OH^{\cdot}$). Биохимических реакций, в которых кислород выступает в качестве акцептора электрона, в клетке много, и в результате образуется достаточно большое количество $\dot{O}^{-}_2$-радикалов [11,12]. Участие $\dot{O}^{-}_2$-радикалов в процессах повреждения биологических структур (инициации ПОЛ мембран, повреждения молекул

Таблица 1

Содержание продуктов ПОЛ в ткани и изменение активности Cu, Zn-СОД в цитозоле печени крыс при остром и хроническом отравлении четырёххлористым углеродом (M±m)

Длительность опыта	ПОЛ (КД) (усл.ед./г печени)	Активность СОД усл.ед./(1 мг/1 мл/1 мин)
24 часа	9,06±0,48*	124,65±15,87*
48 часов	9,48±0,49*	43,36±6,73*
72 часа	9,39±0,52*	47,62±4,43*
2 месяца	10,54±0,74*	404,7±84,2*
2 месяца контроль	7,04±0,31	229,8±41,1
Интактные животные	5,14±0,25	179,32±17,44

Примечание: * отклонение от нормы достоверно ($p \leq 0,05$).

Таблица 2

Содержание продуктов ПОЛ в ткани и изменение активности Cu, Zn-СОД в цитозоле печени крыс, отравленных солянокислым гидразином (M±m)

Продолжительность опыта	ПОЛ (усл.ед./г печени)		Активность СОД усл.ед./(1 мг/1 мл/1 мин)
	КД	МДА	
0,5 часа	5,03±0,35*	0,97±0,11	—
1 час	5,01±0,24*	0,82±0,03	56,1±9,98*
3 часа	10,15±0,97*	0,83±0,03	55,1±7,23*
24 часа	23,34±1,51	1,03±0,13	36,2±4,56*
48 часов	14,13±1,23*	1,91±0,28*	89,1±14,12*
72 часа	10,24±1,28*	1,61±0,28*	59,27±6,73*
Интактные животные	5,38±0,57	0,89±0,09	179,31±17,84

Примечание: * отклонение от нормы достоверно ($p \leq 0,05$).

ДНК, окисления SH-групп белков, инактивации ферментов, деполимеризации полисахаридов) не вызывает сомнений [5].

Считается, что непосредственный повреждающий эффект в большинстве случаев обусловлен, по-видимому, значительно более активным гидроксильным радикалом ($OH^{\cdot}$) и синглетным кислородом ($^1O_2$), образующимся при взаимодействии $^{\cdot}O^{-}_2$ с H_2O_2. Таким образом, важность появления $^{\cdot}O^{-}_2$-радикала для клетки очевидна, но конкретный механизм образования его не всегда известен [5,11].

Защита клетки от интермедиатов одноэлектронного восстановления кислорода обеспечивается главным образом ферментативной системой антиокислительной защиты, ключевым компонентом которой является супероксиддисмутаза, обладающая субстратной специфичностью в отношении $^{\cdot}O^{-}_2$-радикалов. СОД обезвреживает только одну из форм активного кислорода путём дисмутации $^{\cdot}O^{-}_2$-радикалов и превращения их в менее реакционноспособные молекулы H_2O_2 и триплетного кислорода [11]. Следовательно, фермент СОД способен регулировать или ингибировать ПОЛ прежде всего на стадии инициации процесса. При этом в необратимых повреждениях живых клеток, вызванных свободными радикалами, несомненно, участие не только самих $^{\cdot}O^{-}_2$-радикалов, но и порождаемых ими вторичных радикалов [5,11]. Если учесть, что общий уровень свободнорадикальных процессов и скорость накопления повреждений в клетке зависят от соотношения процессов образования и обезвреживания свободных радикалов, то при изучении механизмов токсического повреждения печени совершенно очевидной становится необходимость одновременного изучения показателей ПОЛ и системы ферментативной защиты от него. Поэтому представляется целесообразным изучить в динамике взаимосвязь изменений активности СОД и накопление продуктов ПОЛ (КД и МДА).

Единого представления об уровне СОД и её участии в процессах ПОЛ при различных патологических состояниях до настоящего времени не существует. В некоторых случаях процесс ПОЛ сопровождается, например, снижением активности СОД. Так, при ишемии печени, почки, миокарда, скелетных мышц в эксперименте, а также при отравлении CCl_4 и опухолях происходит активация процесса ПОЛ, а активность СОД при этом значительно снижена [13,14]. И наоборот, при термических поражениях, отравлениях амитриптилином, фосфорорганическими соединениями, а также при повышении уровня кислорода в тканях происходит, как правило, возрастание активности СОД, оказывающее в этих условиях положительное влияние на регуляцию ПОЛ.

Представленные в таблицах 1 и 2 результаты свидетельствуют о наличии значительных и достоверных изменений активности СОД в цитозоле печени крыс по сравнению с интактными группами животных, как при остром, так и при хроническом поражении печени.

Наблюдаемые изменения, по-видимому, зависят как от химической природы и механизма действия повреждающих агентов, так и от способа их введения в организм.

Отличительный характер в сравнении с другими ядами обнаружен в изменении активности СОД в цитозоле печени крыс, отравленных перорально. На фоне интенсивных и значительных изменений показателей ПОЛ в ходе всего эксперимента активность СОД меняется незначительно. Не исключена возможность ингибирования молекулы фермента (СОД), что и приводит к активации процесса ПОЛ.

Наибольших успехов ученые достигли в изучении специфических механизмов гепатотоксического действия этанола и CCl_4. Убедительно показано, что токсическое действие этанола и CCl_4, метаболизирующихся с образованием радикальных продуктов, связано с усилением процессов ПОЛ, что совпадает с результатами наших исследований. Но наряду с хорошо изученными токсическими агентами известна большая группа химических соединений, механизм повреждающего действия которых на биологические мембраны также связан со стимуляцией процессов ПОЛ, но степень изученности их на сегодняшний день недостаточна. К ним относятся такие широко используемые в химической промышленности и сельском хозяйстве, лабораторной и научно-исследовательской практике гепатотропные яды, как акрилонитрил, гелиотрин, а также аллиловый спирт и солянокислый гидразин [3,12,14].

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о значительном изменении активности СОД в цитозоле печени крыс при различных токсических поражениях органа. При этом уровень продуктов ПОЛ возрастает, а активность СОД снижается. С точки зрения свободнорадикальной теории активность (т.е. надёжность) ферментативной защиты клетки от $^{\cdot}O^{-}_{2}$-радикалов является одним (но не единственным) из факторов, влияющих на скорость и выраженность патологического процесса. При остром токсическом поражении печени одновременно снижается и общий уровень глутатиона, конкурирующего с СОД и связывающего все звенья биохимических механизмов детоксикации липофильных и гидрофильных ксенобиотиков, которые функционируют как единое целое, и активность глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, каталазы и других ферментов, имеющих критериальное значение в оценке токсического действия ксенобиотиков различной химической природы. Иначе говоря, ослабляется другое звено системы детоксикации — механизм антиперекисной защиты, что может привести к резкому повышению интенсивности процесса ПОЛ, являющегося причиной развития поражения биомембран, цитотоксичности, возникновения мутагенного и канцерогенного эффекта, а также к появлению иммунотоксичности и в итоге — к снижению иммунитета. В частности, при воздействии ФОС самостоятельно и в комплексе с антидотами была выявлена положительная корреляция между иммунными реакциями и показателями антиоксидантной системы и отрицательная корреляция между иммунными реакциями и продуктами ПОЛ [15,16].

Поэтому анализ имеющихся данных не позволяет пока со всей определённостью утверждать, что нарушение сбалансированности между потоком $^{\cdot}O^{-}_{2}$-радикалов и активностью СОД в клетках печени является наиболее существенным механизмом поражения печени при рассмотренных токсических воздействиях.

Вывод

Исследование состояния ферментов печени показало, что необходим комплексный системный подход, позволяющий оценить эффективность всех взаимосвязанных звеньев системы детоксикации, а также определить направления поиска действенных фармакологических средств, защищающих организм от развития острой и хронической интоксикации.

1. Фрумин Г.Т. Экологическая химия и экологическая токсикология. СПб.: РГГМУ, 2000. 198 с.
2. Альберт А. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии. Т.2. М.: Медицина, 1989. 432 с.
3. Андреев Г.Н. Клиническая биохимия: учеб. пособие. Великий Новгород: НовГУ им. Ярослава Мудрого, 2009. 95 с.
4. Батян А.Н., Фрумин Г.Т., Базылев В.Н. Основы общей и экологической токсикологии. СПб.: СпецЛит, 2009. 352 с.
5. Скопичев В.Г., Жичкина Л.В. Физиологические принципы детоксикации. СПб.: АКЦ, 2010. 460 с.
6. Placer Z., Kužela L. In vivo-Lipoperoxidation in der Leber nach partieller hepatektomie // Acta Biol. Med. Germ. 1968. Bd.21, N1. S.121–124.
7. Кишкун А.А. Клиническая лабораторная диагностика: учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. 976 с.
8. Lowry O.H., Rosenbrough N., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent // J Biol. Chem. 1951. Vol.193, N1. P.265–275.
9. Плохинский Н.А. Математические методы в биологии. М.: МГУ, 1978. 265 с.
10. Коневалова Н.Ю., Гребенников И.Н., Козловская С.П. и др. Биохимия: пособие. Витебск: ВГМУ, 2017. 690 с.
11. Мерзляк М.Н., Соболев А.С. Роль супероксидных анион-радикалов и синглетного кислорода в патологии мембран // Итоги науки и техники. Биофизика. 1975. Т.5. С.118–165.
12. Копылова Т.Н. Процессы перекисного окисления липидов и антиокислительная система печени крыс при остром и хроническом отравлении четырёххлористым углеродом // Сельскохозяйственная биология. Сер.: Биология животных. 2000. №4. С.74–77.
13. Копылова Т.Н., Майоре А.Я. Экспериментальное изучение состояния антиокислительной системы печени крыс при остром токсическом гепатите // Лабораторные животные. 1992. Т.2, №2. С.5–12.
14. Петров А.Н., Софронов Г.А., Нечипоренко С.П., Сомин И.Н. Антидоты фосфорорганических отравляющих веществ // Рос. хим. ж. (Ж. Рос. Хим. об-ва им. Д.И. Менделева). 2004. Т.XLVIII, №2. С.110–116.
15. Забродский П.Ф., Громов М.С., Яфарова И.Х. Нарушение функции Th1- и Th2-лимфоцитов и изменение содержания цитокинов в крови при различных сроках хронической интоксикации фосфорорганическими соединениями // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. 2013. Т.156(12). С.753–756.
16. Забродский П.Ф. Иммунотоксикология фосфорорганических соединений. Саратов: Саратовский источник, 2016. 289 с.

References

1. Frumin G.T. Ecological chemistry and ecological toxicology. St. Petersburg, Russian State Hydrometeorological University Publ., 2000. 198 p.
2. Albert A. Izbiratel'naya toksichnost'. Fiziko-khimicheskiye osnovy terapii [Selective toxicity. Physical and chemical bases of therapy]. Vol.2. Moscow, Meditsina Publ., 1989. 432 p.

3. Andreev G.N. Klinicheskaya biokhimiya: uchebnoye posobiye [Clinical biochemistry: textbook]. Veliky Novgorod, Yaroslav-the-Wise Novgorod State University Publ., 2009. 95 p.
4. Batyan A.N. Osnovy obshchey i ekologicheskoy toksikologii [Fundamentals of general and ecological toxicology]. St. Petersburg, SpetsLit Publ., 2009. 352 p.
5. Skopichev V.G., Zhichkina L.V. Fiziologicheskiye printsipy detoksikatsii [Physiological principles of detoxification]. St. Petersburg, AKTS Publ., 2010. 460 p.
6. Placer Z., Kužela L. In vivo-Lipoperoxidation in der Leber nach partieller hepatektomie. Acta Biol. Med. Germ., 1968, vol.21, no.1, pp.121–124.
7. Kishkun A.A. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika: uchebnoye posobiye [Clinical laboratory diagnostics: textbook]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2013. 976 p.
8. Lowry O.H., Rosenbrough N. Protein measurement with the folin phenol reagent. J. Biol.Chem., 1951, vol.193, no.1, pp.265–275.
9. Plokhinsky N.A. Matematicheskiye metody v biologii [Mathematical methods in biology]. Moscow, Moscow State University Publ., 1978. 265 p.
10. Konevalova N.Yu., Grebennikov I.N., Kozlovskaya S.P., et al. Biokhimiya: posobiye [Biochemistry: manual]. Ed. N.Yu. Konevalova. Vitebsk, Vitebsk State Medical University Publ., 2017. 690 p.
11. Merzlyak M.N., Sobolev A.S. Rol' superoksidnykh ani-on-radikalov i singletnogo kisloroda v patologii membran [The role of superoxide anion radicals and singlet oxygen in membrane pathology]. Itogi nauki i tekhniki, Biofizika — Recent Developments in Science and Technology, Biophysics Series, 1975, vol.5, pp.118–165.
12. Kopylova T.N. Protsessy perekisnogo okisleniya lipidov i antiokislitel'naya sistema pecheni krys pri ostrom i khronicheskom otravlenii chetyrokhkhloristym uglerodom [Processes of lipid peroxidation and the antioxidant system of the liver of rats in acute and chronic carbon tetrachloride poisoning]. Sel'skokhozyaystvennaya biologiya. Ser.: Biologiya zhivotnykh — Agricultural Biology. Series "Biology of Animals", 2000, no.4, pp.74–77.
13. Kopylova T.N., Mayore A.Ya. Eksperimental'noye izucheniye sostoyaniya antiokislitel'noy sistemy pecheni krys pri ostrom toksicheskom gepatite [Experimental study of the state of the antioxidant system of the rat liver in acute toxic hepatitis]. Laboratornyye zhivotnyye — Laboratory Animals, 1992, vol.2, no.2, pp.5–12.
14. Petrov A.N., Sofronov G.A., Nechiporenko S.P., Somin I.N. Antidoty fosfororganicheskikh otravlyayushchikh veshchestv [Antidotes of organophosphorus toxic substances]. Zhurnal Ross. Khim. Ob-va im. D.I.Mendeleeva — Mendeleev Chemistry Journal, 2004, vol.48, no.2, pp.110–116.
15. Zabrodskiy P. F., Gromov M. C., Yafarova I. KH. Narusheniye funktsii Th1- i Th2-limfotsitov i izmeneniye soderzhaniya tsitokinov v krovi pri razlichnykh srokakh khronicheskoy intoksikatsii fosfororganicheskimi soyedineniyami [Dysfunction of Th1- and Th2-lymphocytes and changes in the content of cytokines in the blood at various periods of chronic intoxication with organophosphorus compounds]. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny — Bulletin of Experimental Biology and Medicine, 2013, vol.156(12), pp.753–756.
16. Zabrodsky P.F. Immunotoksikologiya fosfororganicheskikh soyedineniy [Immunotoxicology of organophosphorus compounds]. Saratov, Saratovskiy istochnik Publ., 2016. 289 p.