

БІОХІМІЧНІ МАРКЕРИ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ІЗ ТОКСИЧНИМ ГЕПАТИТОМ ЗА УМОВ ВВЕДЕННЯ ЦИТРАТУ ГЕРМАНІЮ

Г. П. Копильчук, О. М. Волощук, О. В. Баландюк
o.voloshchuk@chnu.edu.ua

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
Інститут біології, хімії та біоресурсів, кафедра біохімії та біотехнології,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58000, Україна

Метою роботи було дослідження активності маркерних ферментів стану печінки щурів за умов ацетамінофен-індукованого токсичного ураження та впливу цитрату германію. Для досягнення мети у роботі проведена оцінка сорбітолдегідрогенази, аланін- та аспартатамінотрансферазної активності у сироватці крові, а також розраховано коефіцієнт де Рітіса за досліджуваних умов.

Активність сорбітолдегідрогенази у сироватці крові визначали кінетичним методом у реакції NADH-залежного відновлення D-фруктози в D-сорбітол. Активність аланінамінотрансферази (АлТ) та аспартатамінотрансферази (АсТ) в сироватці крові оцінювали спектрофотометрично на спектрометрі Cary 60 (Agilent Technologies), використовуючи набори реактивів («Філісит-Діагностика», Україна). Гепатит моделювали шляхом введення ацетамінофену per os у дозі 1 г/кг маси тварин у 2 % крохмальній суміші протягом двох діб за допомогою спеціального зонду.

Показано, що за умов модельованого токсичного ураження печінки на фоні підвищення ферментативної активності сорбітолдегідрогенази, аланінамінотрансферази та аспартатамінотрансферази спостерігається підвищення коефіцієнту де Рітіса.

Введення цитрату германію інтактним тваринам показало, що він не мав гепатотоксичних властивостей, оскільки активність досліджуваних ферментативних маркерів функціонального стану печінки (сорбітолдегідрогенази, АлТ, АсТ) залишається у межах норми при збереженні на рівні контролю коефіцієнта де Рітіса.

Дослідження гепатопротекторних властивостей цитрату германію показало, що у тварин з попередньо модельованим токсичним ураженням печінки за умов введення цитрату германію спостерігається зниження в 2,5 рази активності сорбітолдегідрогенази, а також активності досліджуваних амінотрансфераз сироватки крові та коефіцієнту де Рітіса порівняно з тваринами, які не отримували досліджуваного засобу. Встановлене зниження ферментативної активності маркерних ферментів стану печінки відкриває перспективи для вивчення біохімічних механізмів гепатопротекторних властивостей цитрату германію.

Ключові слова: ТОКСИЧНЕ ПОШКОДЖЕННЯ ПЕЧІНКИ, ЦИТРАТ ГЕРМАНІЮ, СОРБІТОЛДЕГІДРОГЕНАЗА, АЛАНІНАМІНОТРАНСФЕРАЗА, АСПАРТАТАМІНОТРАНСФЕРАЗА, КОЕФІЦІЄНТ ДЕ РІТІСА

BIOCHEMICAL MARKERS OF THE FUNCTIONAL LIVER STATE IN RATS WITH TOXIC HEPATITIS UNDER THE CONDITIONS OF GERMANIUM CITRATE ADMINISTRATION

G. P. Kopylchuk, O. M. Voloshchuk, O. V. Balandyuk
o.voloshchuk@chnu.edu.ua

Chernovtsi national university named after Yurii Fedkovych,
Institute of Biology, Chemistry and Bioresources,
Biochemistry and biotechnology department,
2 Kotsyubynskogo str., Chernivtsi 58000, Ukraine

Activity of rats' liver marker enzymes under the conditions of acetaminophen-induced toxic liver injury and influence of germanium citrate was studied. Hepatitis was modeled in these rats by per os acetaminophen administration (1 g/kg in 2 % starch suspension for 2 days using a special catheter). Serum sorbitol dehydroge-

nase activity was determined by the kinetic method in the reaction of NADH-dependent reduction of D-fructose to D-sorbitol. Serum alanine aminotransferase (ALT) activity and aspartate aminotransferase (AST) was evaluated using a kit of reagents (Filicit-Diagnostica, Ukraine). It is shown that under the conditions of modeled toxic liver injury an increase of the enzymatic activity of sorbitol dehydrogenase, alanine transaminase and aspartate transaminase along with the elevation of De Ritis ratio was observed.

Administration of germanium citrate to the intact animals have shown that studied compound is devoid of hepatotoxic properties since the activity of the enzymatic markers of liver state (sorbitol dehydrogenase, AST, ALT) and De Ritis ratio remains on the control level.

Study of the hepatoprotector properties of the germanium citrate have shown that in animals with the previously modeled toxic liver injury and administration of germanium citrate a decrease by 2.5 times of sorbitol dehydrogenase activity along with the restoration of transaminases activity and De Ritis ratio down to the control values was observed comparing to the animals which weren't administered with studied compound. Established decrease of the enzymatic activities of marker liver enzymes opens the new perspectives for the study of biochemical mechanisms of the hepatoprotector properties of germanium citrate.

Keywords: TOXIC LIVER INJURY, GERMANIUM CITRATE, SORBITOL DEHYDROGENASE, ALANINE TRANSAMINASE, ASPARTATE TRANSAMINASE, DE RITIS RATIO

БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС С ТОКСИЧЕСКИМ ГЕПАТИТОМ В УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ ЦИТРАТА ГЕРМАНИЯ

Г. П. Копыльчук, О. Н. Волощук, О. В. Баландюк
o.voloschuk@chnu.edu.ua

Черновицкий национальный университет им. Ю. Федьковича,
Институт биологии, химии и биоресурсов, кафедра биохимии и биотехнологии, ул. Коцюбинского, 2, г. Черновцы, 58000, Украина

Целью работы было исследование активности маркерных ферментов состояния печени крыс в условиях ацетаминофен-индуцированного токсического повреждения и влияния цитрата германия. Для достижения цели в работе проведена оценка сорбитолдегидрогеназной, аланин- и аспаратаминотрансферазной активности в сыворотке крови, а также рассчитан коэффициент де Ритиса в исследуемых условиях.

Активность сорбитолдегидрогеназы в сыворотке крови определяли кинетическим методом в реакции NADH-зависимого восстановления D-фруктозы в D-сорбитол. Активность аланинаминотрансферазы (АлТ) и аспаратаминотрансферазы (АсТ) в сыворотке крови оценивали, используя наборы реактивов («Филисит-Диагностика», Украина). Гепатит моделировали путём введением ацетаминофена *per os* в дозе 1 г/кг массы животных в 2 % крахмальной взвеси на протяжении 2 дней с помощью специального зонда.

Показано, что в условиях моделированного токсического повреждения печени на фоне повышения активности энзиматической активности сорбитолдегидрогеназы, аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы наблюдается повышение активности коэффициента де Ритиса.

Введение цитрата германия интактным животным показало, что исследуемый препарат не владеет гепатотоксическими свойствами, поскольку активность исследуемых энзиматических маркеров функционального состояния печени (сорбитолдегидрогеназы, АлТ, АсТ) остается в пределах нормы при сохранении на уровне контроля коэффициента де Ритиса.

Исследование гепатопротекторных свойств цитрата германия показало, что у животных с моделированным токсическим повреждением печени в условиях введения цитрата германия наблюдается снижение, по сравнению с животными, не получавшими препарат, в 2,5 раза активности сорбитолдегидрогеназы, а также снижение активности исследуемых аминотрансфераз сыворотки и коэффициента де Ритиса до показателей контрольной группы животных. Установленное снижение энзиматических активностей маркерных ферментов состояния печени открывает перспективы для изучения биохимических механизмов гепатопротекторных свойств цитрата германия.

Ключевые слова: ТОКСИЧЕСКОЕ ПОВРЕЖДЕНИЕ ПЕЧЕНИ, ЦИТРАТ ГЕРМАНИЯ, СОРБИТОЛДЕГИДРОГЕНАЗА, АЛАНИНАМИНОТРАНСФЕРАЗА, АСПАРТАМИНОТРАНСФЕРАЗА, КОЭФФИЦИЕНТ ДЕ РИТИСА

Печінка як центральний орган хімічного гомеостазу є особливо чутливою мішенню дії ксенобіотиків. Екзогенно-токсичне ураження печінки виникає внаслідок впливу низки різноманітних фізичних і хімічних факторів, серед яких — медикаментозні препарати, алкоголь, засоби побутової хімії, токсини грибів тощо [2, 9]. На сьогодні токсичні гепатити становлять одну з найсерйозніших медико-соціальних проблем у світі, що зумовлено не тільки високим рівнем захворюваності серед населення, але й суттєвими економічними затратами на діагностичний пошук та лікування [1, 4, 6, 18].

Важливим напрямком біохімічних досліджень у діагностичному, терапевтичному та профілактичному аспектах є моделювання медикаментозних уражень печінки та дослідження біохімічних показників її функціонального стану, що дозволяє оцінити глибину деструктивних змін, відкриває перспективи для розробки критеріїв ранньої діагностики та пошуку ефективних гепатопротекторних препаратів [8]. Програма комплексної терапії гепатопатологій охоплює низку основних напрямків — профілактичну, етіотропну, патогенетичну та симптоматичну терапію, кінцевою метою якої є відновлення структурно-функціональної цілісності печінки [14]. **Проте на сьогодні актуальним залишається пошук ефективних нетоксичних гепатотропних засобів.**

У науковій літературі все частіше обговорюється питання терапевтичної дії германієвих сполук [10, 21]. Доклінічні та клінічні випробування окремих органічних і комплексних германійвмісних сполук засвідчили широкий спектр їх біологічної дії, зокрема детоксикаційний і мембранопротекторний ефект [12]. Водночас гепатопротекторні властивості цитрату германію на сьогодні вивчені недостатньо.

Тому метою роботи стало дослідження біохімічних маркерів функціонального стану печінки щурів з токсичним гепатитом за умов введення цитрату германію.

Робота виконана в рамках НДР «Біохімічні аспекти респонсивної інтеграції метаболізму есенціальних нутрієнтів», № державної реєстрації 0115U003231.

Матеріали і методи

Дослідження проводились на білих безпородних щурах масою 90–100 г, віком 2–2,5 місяця, які утримувалися на стандартному раціоні віварію. Всі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог міжнародної конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших цілей.

Згідно з моделлю дослідження, тварин розділили на 4 групи по 9 особин у кожній: I група — інтактні тварини (К); II група — здорові тварини, яким протягом 5 діб вводили *per os* цитрат германію у щоденній дозі 5 мкг/кг (Ge) за допомогою спеціального зонда; III — щури з ацетоамінофен-індукованим ураженням печінки (ТУ); тваринам IV групи після моделювання гострого парацетамол-індукованого токсичного ураження вводили *per os* цитрат германію протягом 5 діб у щоденній дозі 5 мкг/кг (ТУ+Ge).

Препарат цитрату германію люб'язно наданий Українським державним науково-дослідним інститутом нанобіотехнологій та ресурсозбереження (м. Київ).

Моделювання ацетоамінофен-індукованого ураження печінки здійснювали шляхом введення *per os* ацетоамінофену у вигляді 2 % крохмальної суспензії протягом 2 діб за допомогою спеціального зонда. Щоденна доза становила 1 г/кг маси тварин [11].

Цервікальну дислокацію тварин проводили під легким ефірним наркозом.

Активність сорбітолдегідрогенази (1.1.1.14) у сироватці крові визначали кінетичним методом [16], що базується на здатності сорбітолдегідрогенази відновлювати D-фруктозу до D-сорбітолу з одночасним окисленням NADH. Активність аланінамінотрансферази (АлТ, 2.6.1.2) та аспартатамінотрансферази (АсТ, 2.6.1.1) у сироватці крові оцінювали, використовуючи набори реактивів («Філісіт-Діагностика», Україна).

Статистичну обробку одержаних даних здійснювали за допомогою комп'ютерної програми «Microsoft Excel». Результати представляли як середнє значення 9 незалежних визначень \pm похибка середнього. Статистичну значимість різниці середніх показників оціню-

вали, використовуючи стандартний *t*-критерій Стьюдента.

Результати й обговорення

Класичним індуктором токсичного ураження печінки, що використовується в експериментальній біохімії, є ненаркотичний анальгетик ацетамінофен, який метаболізується в гепатоцитах [3, 6]. Ацетамінофен із синусоїдів надходить в гепатоцити і метаболізується в ендоплазматичному ретикулумі, куди потрапляє в комплексі зі специфічними внутрішньоклітинними протеїнами-транспортерами. Окрім того, ацетамінофен надходить у жовчеві каналці, звідки його метаболіти екскретуються у жовч [8].

Нами встановлено, що введення *per os* ацетамінофену в дозі 1 г/кг маси тварин у вигляді 2 % крохмальної суспензії протягом 2 діб дозволяє моделювати цитолітичний тип пошкодження печінки [20]. Про це свідчить 20-кратне підвищення в сироватці крові активності органоспецифічного ензиму печінки — сорбітолдегідрогенази (рис. 1).

Підвищення аспартатамінотрансферазної активності втричі (рис. 2) та двократне зростання активності аланінамінотрансферази (рис. 3), очевидно, зумовлене посиленням виходом ензимів із клітин печінки в кров внаслідок підвищення проникності гепатоцелюлярних мембран за умов ацетамінофен-індукованого ураження. Встановлена нами величина коефіцієнта де Рітиса, яка значно переважає контрольні значення (рис. 4), на фоні високих показників аспартатамінотрансферази (рис. 3) вказує на некротичний тип ураження печінки з ознаками мітохондріальної гепатоцитопатії.

У літературі показано, що підвищення активності сироваткових амінотрансфераз із супутньою гіпопротромбінемією є характерними клінічними ознаками ацетамінофен-індукованої гепатотоксичності [5]. На сьогодні розглядаються кілька механізмів пошкодження і загибелі гепатоцитів за умов передозування ацетамінофеном. Один із механізмів ключову роль у пошкодженні гепатоцитів відводить активним формам кисню та окислювальному стресу. Припускають, що виснаження пулу

відновленого глутатіону при передозуванні ацетамінофеном призводить до збільшення внутрішньоклітинної концентрації пероксиду водню з наступним формуванням окиснювального стресу [19]. Низка авторів ключову роль у формуванні ацетамінофен-індукованої гепатотоксичності відводить ушкодженню мітохондрій. Ультраструктурні і біохімічні дослідження показали, що токсичні дози ацетамінофену призводять до ушкодження структури та функцій мітохондрій печінки [7, 13]. Водночас ацетамінофен розглядається як зручний агент для моделювання токсичного гепатиту з метою пошуку ефективних гепатопротекторних препаратів.

Результати проведених досліджень впливу цитрату германію на функціональний стан печінки показали, що вказаний засіб не має гепатотоксичних властивостей оскільки активність досліджуваних ензиматичних маркерів стану печінки (сорбітолдегідрогенази, АлТ, АсТ) залишається у межах норми (рис. 1–3) при збереженні на рівні контролю коефіцієнта де Рітиса (рис. 4).

З метою дослідження гепатопротекторних властивостей цитрату германію проводилося введення досліджуваного засобу тваринам з попередньо модельованим токсичним ураженням печінки. Результати проведених досліджень показали, що активність сорбітолдегідрогенази у сироватці крові тварин вказаної групи знижується у 2,5 разу порівняно з тваринами, які не отримували досліджуваного засобу (рис. 1). Сорбітолдегідрогеназа локалізується в цитозолі гепатоцитів, і в нормі досліджувана ензиматична активність у сироватці крові не виявляється [15]. Визначення у сироватці активності сорбітолдегідрогенази використовується як надійний скринінговий тест для діагностики глибини порушень гепатобіліарної системи, а також ефективності застосування гепатопротекторних препаратів [17].

Проте слід зазначити, що 5-денне введення цитрату германію не призводило до відновлення досліджуваного показника до значень контролю, що, ймовірно, вказує на необхідність проведення тривалішого введення цитрату германію при токсичному ураженні печінки.

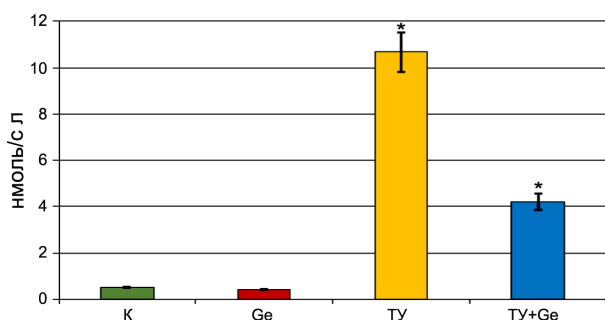


Рис. 1. Сорбітолдегідрогеназна активність сироватки крові щурів при токсичному гепатиті за умов введення цитрату германію

Fig. 1. Serum sorbitol dehydrogenase activity in rats with toxic hepatitis and administration of germanium citrate

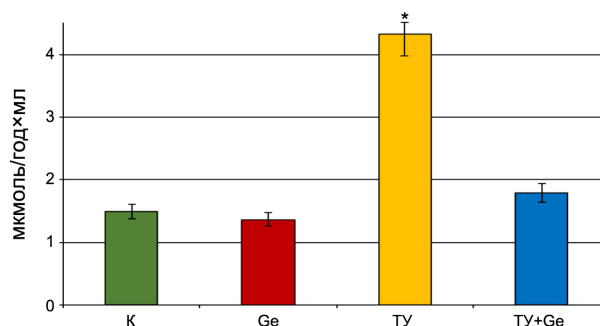


Рис. 2. Аспартатамінотрансферазна активність сироватки крові щурів при токсичному гепатиті за умов введення цитрату германію

Fig. 2. Serum AST activity in rats with toxic hepatitis and administration of germanium citrate

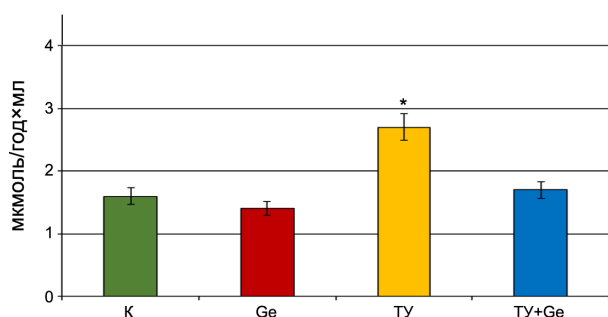


Рис. 3. Аламініамінотрансферазна активність сироватки крові щурів при токсичному гепатиті за умов введення цитрату германію

Fig. 3. Serum ALT activity in rats with toxic hepatitis and administration of germanium citrate

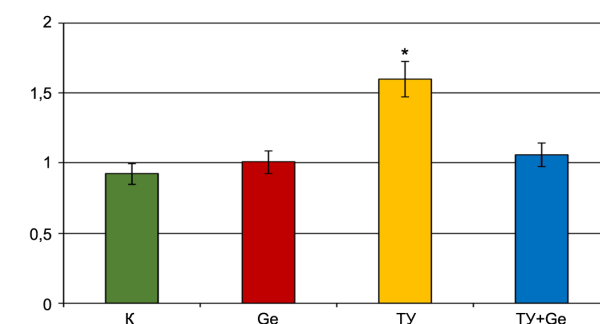


Рис. 4. Значення коефіцієнта де Рітиса при токсичному гепатиті за умов введення цитрату германію

Fig. 4. De Ritis ratio in rats with toxic hepatitis and administration of germanium citrate

Примітка: К — інтактні тварини; Ge — здорові тварини, яким протягом 5 діб вводили *per os* цитрат германію у щоденній дозі 5 мкг/кг; TY — тварини з ацетоамінофен-індукованим ураженням печінки; TY+Ge — тварини, яким після моделювання гострого ацетоамінофен-індукованого токсичного ураження вводили *per os* цитрат германію протягом 5 діб у щоденній дозі 5 мкг/кг; * — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем ($P \leq 0,05$)

Note: K — intact animals; Ge — healthy animals which were administered for 5 days *per os* citrate germanium in a daily dose of 5 $\mu\text{g/kg}$; TY — animals subjected to acetaminophen-induced liver; TY+Ge — animals, which after simulation acetaminophen-induced acute toxic damage administered *per os* germanium citrate for 5 days at a daily dose of 5 $\mu\text{g/kg}$; * — the difference compared with the control is statistically significant ($P \leq 0,05$)

Водночас за умов введення цитрату германію спостерігалася тенденція до зниження активностей досліджуваних амінотрансфераз сироватки та коефіцієнту де Рітиса до показників контрольної групи тварин (рис. 2–4).

Висновки

Цитрат германію не має гепатотоксичних властивостей, оскільки активність досліджуваних ензиматичних маркерів функціонального стану печінки (сорбітолдегідрогенази, АлТ, АсТ) за умов його введення здоровим тваринам залишається у межах норми при збереженні на рівні контролю коефіцієнта де Рітиса.

Водночас цитрат германію у дозі 5 мкг/кг проявляє гепатопротекторні властивості, оскільки в щурів з модельованим токсичним ураженням печінки за умов введення цитрату германію спостерігається зниження у 2,5 разу активності сорбітолдегідрогенази порівняно з тваринами, які не отримували досліджуваного засобу, а також зниження активностей аламіні-, аспартатамінотрансферази сироватки та коефіцієнта де Рітиса до показників контрольної групи тварин.

Перспективи подальших досліджень.

Встановлене нами зниження ензиматичних активностей маркерних ферментів стану печінки відкриває перспективи для подальшого

вивчення біохімічних механізмів гепатопротекторних властивостей цитрату германію.

1. Borlak J., Chatterji B., Londhe K. B., Watkins P. B. Serum acute phase reactants hallmark healthy individuals at risk for acetaminophen-induced liver injury. *Genome Medicine*, 2013, vol. 5, p. 86. DOI: 10.1186/gm493.

2. Demidov V. I., Nazarenko O. A., Torshun I. Yu., Grishina T. R., Gromova O. A. The effectiveness of progepara in experimental liver damage alcohol and paracetamol: biochemistry and histology. *Farmateka*, 2011, no. 2, pp. 93–98. (in Russian)

3. Dremza I. K., Cheshchevik V. T., Zabrods-kaya S. V., Maksimchik Y. Z., Sudnikovich E. Yu., Lapshina E. A., Zavodnik I. B. Hepatotoxic effects of acetaminophen. Protective properties of tryptophan-derivatives. *Biomedical chemistry*, 2010, vol. 56, no. 6, pp. 710–718. DOI: 10.18097/PBMC20105606710. (in Russian)

4. Fisher K., Vuppalanchi R., Saxena R. Drug-Induced Liver Injury. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2015, vol. 139, pp. 876–887. DOI: 10.5858/ arpa.2014-0214-RA)

5. Fontana R. J. Acute Liver Failure including Acetaminophen Overdose. *Med. Clin. North. Am.*, 2008, vol. 92, no. 4, pp. 761–794.

6. Freitag A. F., Cardia G. F., da Rocha B. A., Aguiar R. P., Silva-Comar F. M., Spironello R. A., Grespan R., Caparroz-Assef S. M., Bersani-Amado C. A., Cuman R. K. Hepatoprotective Effect of Silymarin (*Silybum marianum*) on Hepatotoxicity Induced by Acetaminophen in Spontaneously Hypertensive Rats. *Evid. Based Complement Alternat. Med.*, 2015, 538317. DOI:10.1155/2015/538317

7. Han D., Dara L., Win S., Than T. A., Yuan L., Abbasi S. Q., Liu Z.-X., Kaplowitz N. Regulation of drug-induced liver injury by signal transduction pathways: critical role of mitochondria. *Trends in Pharmacological Sciences*, 2013, vol. 34, no. 4, pp. 243–253.

8. Kopylchuk G. P., Voloshchuk O. M. Modeling of the acetaminophen-induced disturbances of the bile producing liver function under the conditions of alimentary deprivation of protein. *Biomedicine*, 2015, no. 2, pp. 30–36. (in Russian)

9. Koroleva M. V. Exogenous toxic hepatitis. Modern look at etiology, pathogenesis, clinical course. *Drug J.*, 2015, vol. 9, no. 2 (58), pp. 18–22. (in Russian)

10. Krecyun V. Y., Seyffulina I. Y., Godovan V. V. Prospects for the development of new drugs based on

complex compounds of germanium *Odessa Medical Journal*, 2011, no. 1 (123), pp. 31–35. (in Ukrainian)

11. Kuvandik G., Duru M., Nacar A. Yonden Z., Helvacı R., Koc A., Kozlu T., Kaya H., Sogüt S. Effects of Erdosteine on Acetaminophen-induced Hepatotoxicity in Rats. *Toxicologic Pathology*, 2008, vol. 36, pp. 714–719. DOI: 10.1177/0192623308320800.

12. Lee J. H., Kim K. W., Yoon M. Y., Lee J. Y., Kim C. J., Sim S. S. Anti-inflammatory effect of germaniumconcentrated yeast against paw oedema is related to the inhibition of arachidonic acid release and prostaglandin E production in RBL 2H3 cells. *Auton. Autacoid. Pharmacol.*, 2005, vol. 25, no. 4, pp. 129–134. DOI:10.1111/j.1474-8673.2005.00335.x

13. McGill M. R., Sharpe M. R., Williams C. D., Taha M., Curry S. C., Jaeschke H. The mechanism underlying acetaminopheninduced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Clinical Investigation*, 2012, vol. 122, no. 4, pp. 1574–1583.

14. Okovity S. V., Sukhanov D. S., Petrov A. Yu., Romantsov M. G. Hepatotropic medicines: current status. *Terapevt. Arch.*, 2012, no. 2, pp. 62–68. (in Ukrainian)

15. Ozer J., Ratner M., Shaw M., Bailey W., Schomaker S. The current state of serum biomarkers of hepatotoxicity. *Toxicology*, 2008, vol. 245, no. 3, pp. 194–205. DOI: 10.1016/j.tox.2007.11.021.

16. Rose C. I., Henderson A. R. Reaction rate assay of serum sorbitol dehydrogenase activity at 37 °C. *Clin. Chem.*, 1975, vol. 21, pp. 1619–1624.

17. Singh A., Bhat T. K., Sharma O. P. Clinical Biochemistry of Hepatotoxicity. *J. Clin. Toxicol.*, 2011, S4:001. DOI:10.4172/2161-0495.S4-001.

18. Somanawat K., Thong-Ngam D., Klaikeaw N. Curcumin attenuated paracetamol overdose induced hepatitis. *World J. Gastroenterol.*, 2013, vol. 19, no. 12, pp. 1962–1967. DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1962.

19. Sumioka I., Matsura T., Yamada K. Acetaminophen-Induced Hepatotoxicity: Still an Important Issue. *Yonago Acta medica*, 2004, vol. 47, pp. 17–28.

20. Voloshchuk O. N., Kopylchuk G. P., Buchkovskaya I. M. Activity of the marker liver enzymes under the conditions of toxic hepatitis and alimentary deprivation of protein. *Experimental & clinical gastroenterology*, 2014, vol. 108, 8, pp. 96–100. (in Russian)

21. Zinko G. A., Slivinska L. G. The influence of selenium and germanium on separate links of pathogenesis of gastroenteritis of calves. *The Animal Biology*, 2015, vol. 17, no. 2, pp. 57–64. (in Ukrainian)