



УДК 577.1:612.015

## Вплив оксидативного стресу на систему антиоксидантного захисту організму щурів

Т.В. Мартишук

*Інститут біології тварин Національної академії аграрних наук України, Львів, Україна*

Наведено результати досліджень впливу оксидативного стресу на інтенсивність процесів перекисного окиснення ліпідів та активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту організму щурів. Внутрішньом'язове введення щурам дослідної групи 50% розчину тетрахлорметану у дозі 0,25 мл на 100 г маси тіла тварини спричиняє активацію процесів вільнорадикального окислення з надмірним накопиченням проміжних та кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів. Результати досліджень вказують на те, що розвиток оксидативного стресу викликає значне та вірогідне прискорення утворення та накопичення в плазмі крові щурів у всі терміни дослідження гідроперекисів ліпідів і малонового діальдегіду. Найвищим рівень гідроперекисів ліпідів у плазмі крові щурів за оксидативного стресу був на другу добу досліді (0,843 од. Е/мл) порівняно з контролем (0,245 од. Е/мл). Під час дослідження вмісту малонового діальдегіду встановлено, що він був вищим у 2,03 раза порівняно з контролем у тварин дослідної групи на п'яту добу. На 10- та 14-ту добу досліді відмічаємо незначне зниження рівня гідроперекисів ліпідів і малонового діальдегіду. Розвиток оксидативного стресу також спричиняє пригнічення активності глутатіонової системи антиоксидантного захисту організму щурів. Про це свідчить низька активність глутатіонпероксидази та низький рівень відновленого глутатіону у крові щурів дослідної групи. На п'яту добу досліді активність глутатіонпероксидази та рівень відновленого глутатіону у крові щурів, яким вводили тетрахлорметан, був найнижчим (порівняно з контролем дані показники знизилися відповідно на 53% і 51%). На 10-ту та 14-ту добу досліді активність глутатіонпероксидази та рівень відновленого глутатіону у крові щурів дослідної групи дещо зросли, однак порівняно із контролем були вірогідно нижчими. Встановлено суттєве порушення окисно-антиоксидантної рівноваги у тварин за оксидативного стресу, яке характеризується активацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів із надмірним накопиченням проміжних та кінцевих продуктів ПОЛ, пригніченням активності системи антиоксидантного захисту.

*Ключові слова:* тетрахлорметан; гідроперекиси ліпідів; малоновий діальдегід; активні форми кисню; глутатіонпероксидаза; відновлений глутатіон

## The influence of oxidative stress on the state of the antioxidant defense system in the organism of rats

T.V. Martyshuk

*Institute of Animal Biology of NAAS of Ukraine, Lviv, Ukraine*

This article presents the results of research on the influence of oxidative stress on the intensity of the process of lipid peroxidation and the activity of the glutathione system of antioxidant defense in the organisms of rats. Intramuscular injection of 50% solution of tetrachloromethane at a dose of 0.25 ml per 100 g of body weight to rats from the experimental group causes activation of the process of free radical lipid oxidation with excessive accumulation of intermediate and final products of lipid peroxidation. The research results indicate that the development of oxidative stress leads to significant and probable acceleration of the formation and accumulation in the plasma of the rats, in all stages of the experiment, of lipid hydroperoxides and malonic dialdehyde. The highest level of hydroperoxides of lipids in the blood plasma of rats under oxidative stress was on the second day of the experiment, where it was 843 unE/ml, whereas in the control this index was 0.245 unE/ml. During the research into the content of malondialdehyde it was found that in the experimental group of animals it was 2.03 times higher than in the control group on the 5th day. On the 10th and 14th days of the experiment we observed a slight reduction in the levels of lipid hydroperoxides and malondialdehyde. The development of oxidative stress also leads to inhibition of the glutathione system of antioxidant defense in the rats' organism. This shows the low activity of glutathione peroxidase and the low level of restored glutathione in

the blood of the rats from the experimental group. On the 5th day of experiment the activity of glutathione peroxidase and restored glutathione level in the blood of the rats which were injected with carbon tetrachloride was at its lowest, compared with the control these indices decreased respectively by 53% and 51%. On the 10th and 14th days of the experiment the activity of glutathione peroxidase and restored glutathione level in the blood of the rats from the experimental group were slightly increased, but compared to the control they were still significantly lower. Significant disturbances were found in the oxidation-antioxidant balance of the animals under oxidative stress, which is characterized by the activation of the processes of free radical lipid oxidation with excessive accumulation of intermediate and final products and the inhibition of the antioxidant defense system.

*Keywords:* carbon tetrachloride; lipid hydroperoxide; malonic dialdehyde; active forms of oxygen; glutathione peroxidase; restored glutathione

## Вступ

Активні форми кисню – продукти клітинного метаболізму. До них належать вільні радикали, продукти неповного відновлення атомарного кисню, а також пероксид водню, синглетний кисень тощо (Fridovich, 1995; Sohal, 2002; Fruehauf and Meyskens, 2007). Це молекули з високою реакційною здатністю, які можуть порушувати гомеостаз внутрішньоклітинного середовища, реагуючи з макромолекулами, такими як ДНК, білки, ліпіди (Pera et al., 1999). За низьких концентрацій АФК впливають на фізіологічні клітинні процеси: регуляцію тонуусу судин, клітинну проліферацію, синтез простагландинів, передачу сигналів від міжклітинних сигнальних молекул на регуляторні системи, які контролюють експресію генів, мікробіцидну дію фагоцитів (Sharoval and Gromovaaya, 2003). Збільшення в організмі тварин АФК спричинює некроз клітин. Порушення гомеостазу в клітині внаслідок підвищення вмісту активних форм кисню – ключовий механізм розвитку оксидативного стресу (Chumakova et al., 2009; Dubinina, 2001). До таких порушень гомеостазу, які викликають оксидативний стрес, відносять: зміну гомеостазу у результаті дії патологічних чинників, зміну гомеостазу у результаті порушення генетичної інформації, дефект регулювальної системи або органа-мішені (Pera et al., 1999; Dubinina, 2001; Sohal, 2002).

За дії патологічного чинника відбувається зміна інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), накопичення в крові концентрації продуктів вільнорадикального окиснення та активних форм кисню, зниження буферної ємності крові відносно підтримування оптимальних параметрів інтенсивності вільнорадикальних реакцій (Lander, 1997; Valko et al., 2007).

Вільнорадикальне окиснення відіграє надзвичайно важливу роль у розвитку багатьох патологічних процесів. Отруєння експериментальних тварин тетрахлорметаном за морфологічною картиною та біохімічними змінами близьке до гострих уражень печінки різної етіології у людини та тварин. Саме тому у нашій роботі використано класичну модель ушкодження субклітинних мембран гепатоцитів та розвитку оксидативного стресу на основі застосування тетрахлорметану. При цьому в організмі у результаті метаболізму  $CCl_4$  утворюються продукти вільнорадикальної природи – індуктори ПОЛ, внаслідок чого порушується структура клітин печінки та їх основні функції (Calabrese et al., 1999; Kuziv et al., 2005; Cherkashina and Petrenko, 2006; Vyshtakaliuk et al., 2015).

За умов активації процесів ПОЛ, велике значення має функціональна активність внутрішньоклітинних захисних систем, до яких у першу чергу належить система антиоксидантного захисту, представлена комплексом ферментних антиоксидантів і спеціалізованих

ферментів антиоксидантів. Ця система запобігає руйнівній дії продуктів ПОЛ на мембрани та інші структурні елементи клітин. Абсолютне або відносне зниження активності системи антиоксидантного захисту зумовлює посилення процесів ПОЛ (Sharoval and Gromovaaya, 2003). Функціональну основу системи антиоксидантного захисту формує глутатіонова система, складові елементи якої – власне глутатіон і ензими, що каталізують реакції його зворотного перетворення (окиснення або відновлення). До даних ензимів відносять глутатіонпероксидазу та глутатіонредуктазу. Участь глутатіону та пов'язаних із ним систем у процесах біотрансформації та детоксикації можна розглядати як один із загальних механізмів, що визначають стійкість організму до негативної дії токсинів. Аналіз літератури свідчить про те, що рівні GSH, активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази (ензимів синтезу та катаболізму GSH) можуть використовуватись як критерії оцінки негативної дії токсинів різної хімічної природи (Sharoval and Gromovaaya, 2003).

Мета досліджень – з'ясувати вплив оксидативного стресу на рівень продуктів перекисного окиснення ліпідів та активність глутатіонової системи антиоксидантного захисту у крові щурів.

## Матеріал і методи досліджень

Дослідження проводили на білих статевозрілих молодих щурах-самцях лінії Вістар масою 180–200 г, яких утримували на стандартному раціоні інститутського віварію Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів і кормових добавок. Протягом усього експерименту щурів утримували на збалансованому раціоні, що містив усі необхідні компоненти. Питну воду тварини отримували без обмежень зі скляних напувалок об'ємом 0,2 літра.

Тварин поділили на дві групи, по 10 тварин у кожній. I група (К) – інтактні тварини, II група (Д) – щури, уражені тетрахлорметаном. Токсичне ураження щурів викликали шляхом внутрішньом'язового уведення 50% тетрахлорметану у дозі 0,25 мл на 100 г маси тіла тварини на першу та третю добу досліджень.

Кров для біохімічних досліджень забирали під ефірним наркозом з яремної вени на другу, п'яту, десятю та п'ятнадцяту добу експерименту. У плазмі крові визначали вміст гідроперексидів ліпідів (ГПЛ) та рівень малонового діальдегіду (МДА). Глутатіонпероксидазну активність (ГП) визначали за швидкістю окиснення глутатіону за присутності гідроперексиду третинного бутілу та відновленого глутатіону в еритроцитах крові (Vizlo et al., 2012). Усі маніпуляції з тваринами проводили відповідно до Європейської конвенції про захист

хребетних тварин, яких використовують для експериментальних і наукових цілей (Страсбург, 1986 р.).

Статистичне опрацювання показників проводили за допомогою стандартних комп'ютерних програм (Statistica Version 6, StatSoft, Inc., SPSS Statistics 17.0) з визначенням середнього арифметичного (M) та похибки (m). В усіх випадках вірогідними вважали відмінності між групами за  $P < 0,05$  (ANOVA).

### Результати та їх обговорення

Пероксидне окиснення ліпідів в організмі тварин – нормальний фізіологічний процес. У мітохондріальних мембранах підтримується певний рівень ПОЛ, що має велике функціональне значення та відображає ступінь впливу молекулярного кисню на мітохондріальні ліпіди в нормальних фізіологічних умовах. При цьому роль пероксидних процесів визначається їх здатністю регулюва-

ти структурно-функціональний стан мембран, що має вирішальне значення для функціонування ферментних систем (Dubinina, 2001). Після внутрішньом'язового введення лабораторним тваринам дослідної групи тетрахлорметану, концентрація гідроперекисів ліпідів, проміжних продуктів перекисного окиснення ліпідів, у їх крові була вірогідно вищою, ніж у крові щурів контрольної групи (табл. 1). При зіставленні динаміки проміжних і кінцевих продуктів ПОЛ у крові щурів зареєстровано односпрямовані їх зміни. На другу добу досліджень у крові щурів дослідної групи встановлено найвищий рівень цього показника, який відносно контролю зріс у 3,47 раза. У подальшому рівень гідроперекисів ліпідів у крові щурів дослідної групи знижувався і на десяту добу дослідження становив  $0,625 \pm 0,014$  од. Е/мл. На чотирнадцяту добу дослідження знову відмічаємо зростання рівня проміжного продукту ПОЛ, де порівняно із тваринами контрольної групи він збільшився у 2,90 раза ( $P < 0,001$ ).

Таблиця 1

Вміст продуктів перекисного окиснення у плазмі крові щурів за оксидативного стресу ( $M \pm m, n = 10$ )

Групи тварин	До введення тетрахлорметану	Доба дослідження			
		2	5	10	14
Гідроперекиси ліпідів, одЕ/мл					
Контроль	$0,245 \pm 0,022$	$0,243 \pm 0,021$	$0,240 \pm 0,021$	$0,242 \pm 0,019$	$0,244 \pm 0,021$
Дослід	$0,240 \pm 0,022$	$0,843 \pm 0,020^*$	$0,760 \pm 0,033^*$	$0,625 \pm 0,014^*$	$0,705 \pm 0,025^*$
Малоновый діальдегід, нмоль/мл					
Контроль	$4,16 \pm 0,105$	$4,12 \pm 0,074$	$4,13 \pm 0,102$	$4,15 \pm 0,101$	$4,14 \pm 0,095$
Дослід	$4,17 \pm 0,077$	$7,88 \pm 0,067^*$	$8,43 \pm 0,082^*$	$7,99 \pm 0,066^*$	$8,14 \pm 0,073^*$

Аналогічну різницю виявлено також у плазмі крові щурів у процесі дослідження кінцевих продуктів ПОЛ – малонового діальдегіду, який утворюється під час розкладання деяких первинних і вторинних продуктів перекисного окиснення ліпідів (Janero, 1990). На другу добу дослідження рівень малонового діальдегіду у крові щурів дослідної групи зріс у 1,89 раза відносно контролю. На п'яту добу дослідження рівень кінцевих продуктів ПОЛ у плазмі крові щурів, яким вводили тетрахлорметан, був найвищим і відповідно становив  $8,43 \pm 0,082$  нмоль/мл, тоді як у контролі –  $4,13 \pm 0,102$  нмоль/мл. На 10-ту та 14-ту добу дослідження у плазмі крові щурів дослідної групи відмічаємо незначне зниження рівня МДА, однак порівняно з контрольною групою щурів даний показник був вищим у 1,93 і 1,96 раза відповідно. У цілому одержані нами результати вказують на те, що розвиток оксидативного стресу зумовлює значне та вірогідне ( $P < 0,001$ ) прискорення утворення та накопичення у плазмі крові щурів у всі терміни дослідження рівня гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду.

Активізація ПОЛ у печінці може бути зумовлена розвитком стресової реакції. Стрес – відображення всіх адаптаційних реакцій організму, що виникають у відповідь на певний подразник, у нашому дослідженні це введення тетрахлорметану (Chumakova et al., 2009). Тетрахлорметан у такий спосіб індукує утворення низки радикальних метаболітів, які є активними окисниками біологічних субстратів. Вони проявляють виражену цитотоксичну дію та ініціюють процеси перекисного окиснення ліпідів (Teschke et al., 1984; Dubinina, 2001; Chumakova et al., 2009).

Розвиток оксидативного стресу у щурів, викликаний внутрішньом'язовим введенням тетрахлорметану, супро-

воджувався пригніченням активності глутатіонової системи антиоксидантного захисту. У щурів дослідної групи спостерігали зниження активності глутатіонпероксидази – ензиму, який забезпечує захист мембран клітин від руйнівної дії пероксидних радикалів. Даний ензим каталізує розпад перекису водню та окиснює глутатіон. Встановлено, що на другу добу дослідження активність глутатіонпероксидази у крові дослідної групи щурів була найнижчою (відносно контрольної групи вона знизилася на 61%). У подальшому активність досліджуваного ензиму у крові щурів за розвитку оксидативного стресу дещо зросла, однак порівняно з контрольною групою щурів вона була нижчою на 53%. На 10-ту і 14-ту добу дослідження активність глутатіонпероксидази у крові щурів дослідної групи коливалась у межах  $0,135-0,147$  нмоль GSH/хв  $\times$  мг білка.

Відновлений глутатіон – основний сірковмісний антиоксидант в організмі тварин. Він захищає сульфгідрильні групи глобіну, мембрани еритроцитів, двовалентне залізо від дії окиснювачів. Він – центральний компонент системи антиоксидантного захисту майже всіх клітин і органів. Його антиоксидантна дія пов'язана з перенесенням сульфгідрильних груп (Shapoval and Gromova, 2003). За розвитку оксидативного стресу рівень відновленого глутатіону у крові дослідної групи щурів на другу добу дослідження знизився на 50% відносно контролю. Найнижчим рівень відновленого глутатіону був у крові дослідної групи щурів на п'яту добу дослідження, де відповідно коливався у межах  $0,255 \pm 0,014$  мкмоль/мл. На 10-ту і 14-ту добу дослідження рівень досліджуваного показника порівняно з контролем був нижчим на 45% і 47%.

**Вміст відновленого глутатіону та глутатіонпероксидазна активність у крові щурів за умов оксидативного стресу ( $M \pm m$ ,  $n = 10$ )**

Групи тварин	До введення тетрахлорметану	Доба дослідю			
		2	5	10	14
Глутатіонпероксидаза, нмоль GSH/хв $\times$ мг білка					
Контроль	0,290 $\pm$ 0,012	0,293 $\pm$ 0,010	0,281 $\pm$ 0,014	0,295 $\pm$ 0,012	0,279 $\pm$ 0,010
Дослід	0,295 $\pm$ 0,011	0,115 $\pm$ 0,010*	0,133 $\pm$ 0,019*	0,135 $\pm$ 0,014*	0,147 $\pm$ 0,017*
Відновлений глутатіон, мкмоль/мл					
Контроль	0,520 $\pm$ 0,015	0,525 $\pm$ 0,019	0,518 $\pm$ 0,011	0,522 $\pm$ 0,017	0,530 $\pm$ 0,015
Дослід	0,524 $\pm$ 0,017	0,265 $\pm$ 0,025*	0,255 $\pm$ 0,014*	0,285 $\pm$ 0,014*	0,280 $\pm$ 0,020*

Незначне підвищення активності глутатіонпероксидази та рівня відновленого глутатіону в останню добу дослідю, можливо, зумовлене тим, що відбувається посилене утворення радикальних метаболітів і збільшується вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів унаслідок токсичної дії тетрахлорметану. За цих умов вмикається захисна реакція організму тварин на дану патологію та активується система антиоксидантного захисту організму. Згідно з існуючими поглядами на патогенез токсичної дії тетрахлорметану, він пов'язаний із вільнорадикальними метаболітами, що утворюються в результаті руйнування молекул  $CCl_4$ . У результаті посилення перекисного окиснення ліпідних комплексів внутрішньоклітинних мембран порушується активність ензимів, низка функцій клітини (синтез білків, обмін  $\beta$ -ліпопротеїдів), виникає деструкція нуклеотидів тощо. Припускають, що основне місце утворення вільних радикалів – ендоплазматична сітка та мікосоми клітини (Fadhel, 2002; Kuziv et al., 2005). Одержані результати дослідження вказують на суттєві порушення рівноваги прооксидантно-антиоксидантної системи печінки та переважання механізмів пошкодження над механізмами захисту у разі інтоксикації тетрахлорметаном.

Згідно з даними морфологічного вивчення печінки щурів, отруєних тетрахлорметаном, підтверджено інтенсифікацію вільнорадикальних процесів. Під час дослідження Kuziv et al. (2005) виявлено зв'язок між показниками антиоксидантного захисту та деструктивними змінами гепатоцитів або ступенем розвитку токсичного гепатозу. Таке пригнічення складових системи антиоксидантного захисту, ймовірно, зумовлене їх виснаженням унаслідок інтенсифікації ПОЛ за впливу тетрахлорметану, а також порушенням їх синтезу, спричиненим деструкцією мембранних компонентів гранулярної та агранулярної ендоплазматичної сітки, вільних рибосом і полісом цитоплазми гепатоцитів.

Окремі автори (Chen et al., 2000; Usha et al., 2007; Saba et al., 2010) зазначають, що токсична дія тетрахлорметану на печінку також супроводжується порушенням її функціонального стану, що характеризується накопиченням амінотрансфераз у сироватці крові лабораторних тварин. Підвищення активності даних ензимів після ураження печінки тісно корелює зі ступенем деструкції гепатоцитів (Wolf, 1999; Sato et al., 1999; Longo et al., 2007; Morita et al., 2009). Про зниження активності ензимів системи антиоксидантного захисту у нирках за умов введення щурам тетрахлорметану вказують також інші автори (Matsiopa et al., 2012). Отже, отримані результати вказують на те, що в умовах інтоксикації тетрахлорметаном у гепатоцитах і

крові дослідних щурів встановлено інтенсифікацію вільнорадикальних процесів, яка викликає активацію ліпопероксидації та нагромадження ендогенних токсичних продуктів.

## Висновки

Проведена серія досліджень дозволила встановити суттєве порушення окисно-антиоксидантної рівноваги у тварин за оксидативного стресу, яка характеризується у першу чергу активацією процесів вільнорадикального окиснення ліпідів та пригніченням активності глутатіонової системи антиоксидантного захисту. Введення дослідним щурам тетрахлорметану сприяло надмірному накопиченню вмісту як проміжних, так і кінцевих продуктів ПОЛ, зумовило вірогідне збільшення вмісту гідроперекисів ліпідів та малонового діальдегіду у плазмі крові тварин у 3,47 і 2,03 раза порівняно з інтактними тваринами. Активність ензимної та неензимної ланки глутатіонової системи у крові щурів за розвитку оксидативного стресу на п'яту добу дослідю була найнижчою порівняно з контролем (показники знизилися відповідно на 53% і 51%).

## Бібліографічні посилання

- Calabrese, E., Leonard, D., Zhao Xiaohong, 1999. Role of tissue repair in carbon tetrachloride hepatotoxicity in male and female Sprague-Dawley and Wistar rats. *Int. J. Toxicol.* 15, 62–69.
- Chen, W., Kennedy, D.O., Kojima, A., Matsui-Yuasa, I., 2000. Polyamines and thiols in the cytoprotective effect of L-cysteine and L-methionine on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Amino Acids* 18(4), 319–327.
- Cherkashina, D.V., Petrenko, A.Y., 2006. Hepatoprotective effect of fetal tissue cytosol and its thermostable fraction in rats with carbon tetrachloride-induced hepatitis. *B. Exp. Biol. Med.* 141(4), 544–547.
- Chumakova, A.S. Teplyiy, D.L., Nesterova, Y.V., 2009. *Izmenenie svobodnoradikalnykh protsessov v razlichnykh organakh kryis raznogo vozrasta pri ostrom stresse* [Change of free radical processes in various organs of rats of different age with acute stress]. *Biologicheskije Issledovaniya* 4, 34–37 (in Russian).
- Dubinina, O.Y., 2001. *Okisnyuvalniy stres i okisnyuvalna modifikatsiya bilkiv* [Oxidative stress and oxidative modification of proteins]. *Medychna Himija* 3(2), 5–12 (in Ukrainian).
- Fadhel, Z.A., Amran, S., 2002. Effects of black tea extract on carbon tetrachloride-induced lipid peroxidation in liver, kidneys, and testes of rats. *Phytother. Res.* 16, 28–32.

- Fridovich, I., 1995. Superoxide radical and superoxide dismutases. *Annu. Rev. Biochem.* 64, 97–112.
- Fruehauf, J.P., Meyskens, F.L. Jr., 2007. Reactive oxygen species: A breath of life or death? *Clin. Cancer Res.* 13(1), 789–794.
- Janero, D.R., 1990. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Radical Bio. Med.* 9(6), 515–540.
- Kuziv, O.Y., Bodnar, Y.Y., Kuziv, P.P., Klymchuk, L.F., Zavad's'ka, T.S., Derpak, Y.Y., 2005. Efektyvnist' korektsiyi tetrakhlormetanovoho hepatozu povnym holoduvannyam [Efficiency of tetrachlorometan liver pathology correction from starvation]. *Fiziol. Zh.* 51(5), 71–78 (in Ukrainian).
- Lander, H.M., 1997. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J.* 11(2), 118–124.
- Longo, V., Chirulli, V., Giovanni Gervasi, P., Pellegrini, M., 2007. Lisosan G, a powder of grain, does not interfere with the drug metabolizing enzymes and has a protective role on carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity. *Biotechnol. Lett.* 29(8), 1155–1159.
- Matsiopa, I.V., Grigor'eva, N.F., Meshchysheh, I.F., 2012. Effect of *Echinacea purpurea* tincture on the rat kidney antioxidant system under carbon tetrachloride intoxication. *Pharmaceutical Chemistry Journal* 46(7), 441–442.
- Morita, M., Akai, S., Hosomi, H., Tsuneyama, K., Nakajima, M., Yokoi, T., 2009. Drug-induced hepato-toxicity test using gamma-glutamylcysteine synthetase knockdown rat. *Toxicol. Lett.* 189(2), 159–165.
- Pera, N., Phung, N., Farrel, G.C., 1999. Oxidative stress in hepatic fibrogenesis: Implications from a nutritional model of nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 30, 493–494.
- Saba, A.B., Oyagbemi, A.A., Azeez, O.I., 2010. Amelioration of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity and haemotoxicity by aqueous leaf extract of *Cnidioscolus aconitifolius* in rats. *Nig. J. Physiol. Sci.* 25, 139–147.
- Sato, S., Dai, W., Liu, X.-L., Asano, G., 1999. The protective effect of hepatocyte growth-promoting factor (pHGF) against carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats: An ultrastructural study. *Medical Electron Microscopy* 32(3), 184–192.
- Shapoval, G.S., Gromovaya, V.F., 2003. Mehanizmy antioksidantnoy zashchity organizma pri deystvii aktivnykh form kisloroda [The mechanisms of antioxidant defense in the action of reactive oxygen species]. *Ukr. Biokhim. Zh.* 75(2), 5–13 (in Russian).
- Sohal, R.S., 2002. Role of oxidative stress and protein oxidation in the aging process. *Free Radical Bio. Med.* 33(1), 37–44.
- Teschk, R., Vierke, W., Gellert, J., 1984. Effect of ethanol on carbon tetrachloride levels and hepatotoxicity after acute carbon tetrachloride poisoning. *Arch. Toxicol.* 56(2), 78–82.
- Usha, K., Mary Kasturi, G., Hemalatha, P., 2007. Hepatoprotective effect of *Hygrophila spinosa* and *Cassia occidentalis* on carbon tetrachloride induced liver damage in experimental rats. *Indian J. Clin. Biochem.* 22(2), 132–135.
- Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M.T., Mazur, M., Telser, J., 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 39(1), 44–84.
- Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., Ratych, I.B., 2012. Laboratorni metody doslidzhen u biolohiyi, tvarynnystvii ta veterynarniy medytsyni [Laboratory methods of investigation in biology, stock-breeding and veterinary]. Spolom, Lviv (in Ukrainian).
- Vyshtakaliuk, A.B., Nazarov, N.G., Porfiriev, A.G., Zueva, I.V., Minnechanova, O.A., Mayatina, O.V., Reznik, V.S., Zobov, V.V., Nicolskyi, E.E., 2015. The influence of the Xymedon preparation (Hydroxyethylidimethylidihydropyrimidine) on the rat liver recovery under toxic damage induced by carbon tetrachloride. *Biochemistry, Biophysics and Molecular Biology* 462(1), 143–146.
- Wolf, P.L., 1999. Biochemical diagnosis of liver disease. *Indian J. Clin. Biochem.* 14(1), 59–90.

Надійшла до редколегії 23.02.2016