

СРАВНЕНИЕ ГЕПАТОПРОТЕКТОРНОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ КОРМОВЫХ ДОБАВОК

Comparison of Hepatoprotective Effectiveness of Plant Feed Additives

Хоха А.М., д-р мед. наук, профессор, Волошин Д.Б., аспирант,
Будько Т.Н., канд. биол. наук, доцент, Лях Р.Н., младший научн. сотрудник,
Скробко Е.С., младший научн. сотрудник, Коноваленко О.В., канд. биол. наук, доцент,
Садовничий В.В., канд. биол. наук, доцент, Заводник Л.Б., канд. биол. наук, доцент,
leuzavodnik@yandex.ru

*Khokha A.M., Voloshin D.B., Budko T.N., Liakh R.N., Skrobko E.S., Konovalenko O.V., Sadovnichii V.V.,
Zavodnik L.B.*

Гродненский государственный аграрный университет, Терешковой 28, Гродно, Беларусь,
Grodno State Agrarian University, Grodno, Belarus

Реферат. Проблема нарушения функции печени в условиях интенсификации сельскохозяйственного производства становится существенной причиной снижения его эффективности. Поэтому, поиск безопасных и эффективных гепатопротекторов является актуальной задачей ветеринарной фармакологии. Целью работы являлось сравнение известных растительных комбинаций (Лив-52 и Зигбир) при их профилактическом назначении крысам на фоне токсического гепатозо-гепатита вызванного введением четыреххлористого углерода. Для контроля исследовались гематологические, биохимические, антиоксидантные показатели крови крыс линии Вистар и морфология печени. Введение крысам CCl_4 внутривентриально за сутки до забоя вызывало выраженные гематологические изменения (снижение уровня эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, общего белка и альбуминов, рост мочевины, аланиновой- (АЛТ) и аспарагиновой-трансфераз (АСТ)), нарушение антиоксидантного статуса крови и выраженные морфологические изменения. Для профилактики нарушений, начиная за 30 дней до токсиканта назначали комбинированные растительные смеси: кормовую добавку ЗИГБИР (содержащую высушенные и измельченные: андрографис метельчатый, паслен черный, филлантус горький, берхавия раскидистая) или препарат Лив-52 (содержащий корни каперса колючего, семена цикория дикого, паслена черного, кассии западной и тысячелистника обыкновенного, кору терминалии и тамарикса). Введение обоих препаратов, хотя и не вызывает выраженного антиоксидантного эффекта, положительно влияют на гепатопротекторные, белокстимулирующие и гемопоэтические свойства: нормализуется уровень эритроцитов и лейкоцитов, общего белка и альбуминов. Животные, получавшие препараты, имели не столь выраженный подъем маркеров лизиса печеночных клеток АСТ и гамма-глутамилтранспептидазы (ГГТ). Гистологические исследования показали уменьшение лизиса клеток и активацию деления гепатоцитов (рост двухядерных клеток). Полученные результаты не выявили существенных различий эффективности какого-либо препарата, что позволяют рекомендовать их для практического применения в качестве гепатопротекторов.

Abstract. *The problem of liver function disorder in conditions of agricultural production intensification is a significant cause of its efficiency decrease. Therefore, the search for safe and effective hepatoprotectors is a pressing task of veterinary pharmacology. The aim of the work was to compare the known plant combinations (Liv-52 and Zigbir) in their prophylactic prescription to rats against the background of toxic hepatitis-hepatitis caused by carbon tetrachloride injection. Hematological, biochemical, antioxidant blood values of Vistar rats and liver morphology were investigated for control the work was to compare the known plant combinations (Liv-52 and Zigbir) in their prophylactic prescription. Intraperitoneal injection of CCl_4 to rats on the day before the slaughter caused marked hematological changes (decrease in erythrocyte, platelet and leukocyte levels, total protein and albumins, growth of urea, alanine- (ALT) and aspartate-transferases (AST)), disturbance of blood antioxidant status and pronounced morphological changes. For prevention of the disorders, 30 days before toxicant combined vegetable mixtures were prescribed: feed additive ZIGBIR (containing dried and crushed: *Andrographis paniculata*, *Solanum nigrum*, *Phyllanthus amarus*, *Boerhavia diffusa*) or the preparation Liv-52 (containing roots of *Capparis spinosa*, *Cichorium intybus*, *Solanum nigrum*, *Cassia occidentalis*, *Achillea millefolium*, *Terminalia arjuna*, *Tamarix gallica*). The application of both preparations (though without a marked antioxidant effect) positively affects hepatoprotective, protein-stimulating and hemopoietic properties: the level of erythrocytes and leukocytes, common protein and albumins is normalized. The animals treated with the preparations had a less pronounced rise in hepatic*

cell lysis markers ACT and gamma-glutamyltranspeptidase (HGT). Histological studies have shown a decrease in cell lysis and activation of hepatocyte division (growth of two-nuclear cells). The results did not reveal significant differences in the efficacy of any preparation, thus making it possible to recommend them for practical use as hepatoprotectors.

Ключевые слова: крысы, гепатопротекторы, кормовая добавка, перекисное окисление липидов, гематологические и биохимические показатели.

Key words: rats, hepatoprotectors, feed supplement, lipid peroxidation, hematological and biochemical indices.

Введение. Современное сельскохозяйственное производство ведется в обстановке интенсивной токсической нагрузки на животное, обусловленной экологическими и технологическими причинами, использованием пестицидов, гербицидов и других потенциально вредных веществ. Около 6 миллионов искусственно синтезированных химических соединений, накопленных в окружающей среде, представляют потенциальную опасность для здоровья человека и животных [1, 2].

Как показывает статистика, патологии печени занимают до 25% от всех незаразных болезней. Наибольшее распространение и клиническую актуальность имеют гепатиты, гепатозы, циррозы, холециститы и желчнокаменная болезнь, а у крупного рогатого скота они регистрируются до 60% от общего поголовья [3, 4]. Чаще других этому заболеванию подвержены животные с высокой продуктивностью, что связано с большей интенсивностью обменных процессов в их организме [1]. Болезни печени сопровождаются тяжелыми патологическими процессами и являются причиной снижения функции воспроизводства животных, сокращения их производственного использования, ухудшения качества производимой продукции, снижения молочной продуктивности на 15-26%, уменьшения приростов живой массы молодняка на 10-15%, увеличения затрат на проведение лечебно-профилактических мероприятий, что негативно сказывается на экономике отрасли животноводства [4, 5].

Являясь основным органом стабилизации гомеостаза организма в норме и при патологии, печень подвержена наиболее сильному влиянию токсических веществ [5, 6].

Четыреххлористый углерод относится к хлорпроизводным метана. Является «прямым» гепатотоксином и широко применяется в экспериментальной медицине. Клиническая картина отравления включает в себя симптомы прямого повреждения печени в виде гепатозо-гепатита (центрлобулярный некроз и жировая дегенерация) и почек (в основном проксимальные отделы почечных канальцев с развитием острой почечной недостаточности), [7]. Метаболические превращения четыреххлористого углерода являются основой его гепатотоксического действия, происходят в мембранах эндоплазматического ретикулума печени при участии цитохрома P – 450, что аналогично воздействию некоторых микотоксинов [8]. В прямой интоксикации существенную роль играет избыточное образование свободных радикалов, присутствие которых обычно обнаруживается в составе желчи. Повреждающее действие свободных радикалов опосредуют такие факторы, как активация фосфолипазы А, накопление лизофосфатидов, активация регенерирующего поли-АДФ-рибополимеразу фермента окислительной модификации ДНК, понижение содержания NAD и АДФ [7, 9].

Лечение и профилактика острых и токсических поражений печени, несмотря на прогресс современной гепатологии, все еще остается крайне сложным. Особое внимание в последнее время уделяется комплексным препаратам на основе растительного сырья [8, 10, 11, 12].

Целью данного исследования было изучение эффективности применения комплексных кормовых добавок на основе растительных препаратов (Лив52 и ЗИГБИР) для профилактики токсического действия четыреххлористого углерода в модельном эксперименте на крысах.

Материалы и методы исследований. Для реализации поставленных целей на базе вивария УО «Гродненский государственный аграрный университет» было создано четыре группы крыс линии Вистар по 10 животных: 1-ая – контрольная – животные получали основной рацион вивария; 2-ая – контрольная – животные получали основной рацион вивария и по 0,2 мл (токсическая доза) четыреххлористого углерода внутрибрюшинно в виде 50% раствора в оливковом масле; 1-ая - опытная группа – получала внутрь 200 мг/кг корма Лив 52 и на 30 день 0,2 мл CCl₄ внутрибрюшинно; 2-ая - опытная группа получала 400 мг/кг корма Зигбир и на 30 день CCl₄.

Исследования биоматериала проводились в научно-исследовательской лаборатории УО «Гродненский государственный аграрный университет». Для определения гематологических показателей применяли анализатор MEDONIC CA – 620 (Швеция) [13]. Биохимические анализы проводили на биохимическом анализаторе DIALAB Autolyzer 20010D (Австрия) с использованием диагностического набора реактивов фирмы P.Z. CORMAY (Poland). Концентрацию общего билирубина определяли при помощи диазониевой соли сульфаниловой кислоты. Общий холестерол определяли мето-

дом, в основу которого положена модифицированная Ильком реакция Любермана-Бурхарда [14]. Общий белок определяли модифицированным методом Лоури [14]. Концентрацию альбумина в сыворотке крови – по реакции с бромкрезоловым зеленым [14]. Активность АЛТ и АСТ определяли по принципу оптимизированного и модифицированного метода, основанного на рекомендациях Международной Федерации Клинической химии (IFCC) без активации фосфатом пиридоксаля [14]. Активность γ -глутамилтранспептидазы определяли исходя из ее способности катализировать реакцию переноса L-глутаминового остатка с хромогенного субстрата на глицилглицин [14].

Антиоксидантную активность оценивали по уровню субстратов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБКРС) в крови по образованию окрашенного комплекса, имеющего максимум поглощения при 532 нм [15]. Определение восстановленного глутатиона (GSH) в крови проводили по способности сульфгидрильной группы GSH вступать в реакцию с 5,5'-дитио-бис-(2-нитробензойной) кислотой [16]. Для характеристики активности процессов перекисного окисления липидов определяли активности каталазы и глутатионпероксидазы [16] в крови.

Для гистологического исследования кусочки печени фиксировали в жидкости Карнуа. Парафиновые срезы толщиной 5 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и изучали в световом микроскопе Olympus BX-41 при увеличении в 600 раз. При этом оценивали форму гепатоцитов, их размер, количество клеток с двумя ядрами, средний диаметр ядер и ядрышек.

Статистическая обработка результатов исследований проведена методами вариационной и непараметрической статистики с использованием критерия Стьюдента и методом достоверности разности сравниваемых величин. Данные обрабатывались на компьютере с использованием пакета «Statistica 6.0». Предварительно оценивали соответствие полученных значений закону нормального распределения вариационного ряда с помощью W-статистического теста Шапиро-Вилка. Данные представляли в виде среднего значения \pm стандартное отклонение среднего значения. Различия считались значимы при $p < 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. В таблице 1 представлены результаты гематологических исследований крови крыс. Динамика гематологических показателей во 2 контрольной группе проявилась в резком снижении эритроцитов, гемоглобина и тромбоцитов, что указывает на выраженную острую интоксикацию. Эти изменения значительно менее выражены в обеих опытных группах. Уровень эритроцитов сохранился на уровне здоровых животных, а лейкоциты и тромбоциты снизились недостоверно.

Таблица 1 – Гематологические показатели крыс после интоксикации четырёххлористым углеродом в дозе 0,2 мл/кг массы

Показатель	Контроль 1	Контроль 2 (CCl ₄)	Опыт 1 (CCl ₄ +Лив 52)	Опыт 2 (CCl ₄ +Зигбир)
Эритроциты, 10 ¹² /л	8,96 \pm 0,84	6,12 \pm 0,71*	8,54 \pm 0,85#	8,46 \pm 1,17
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	8,78 \pm 1,23	6,54 \pm 0,81*	6,73 \pm 1,43	7,61 \pm 1,28
Тромбоциты, 10 ⁹ /л	489 \pm 12,18	256,53 \pm 20,14*	302,67 \pm 31,62	295,75 \pm 28,53*
Гемоглобин, г/л	165,75 \pm 18,26	179,43 \pm 12,44*	159 \pm 4,58	151,51 \pm 9,56
Цветовой показатель, ед	1,31 \pm 0,14	1,21 \pm 0,09*	1,27 \pm 0,07	1,28 \pm 0,08
Гематокрит, %	46,55 \pm 12,29	40,29 \pm 10,32	43,40 \pm 5,60	42,81 \pm 51

Примечание: * - $p < 0,05$ – относительно 1-ой контрольной группы,
- $p < 0,05$ – относительно 2-ой контрольной группы.

Сходная динамика отмечена и при изучении биохимических показателей крови (Таблица 2). Введение токсиканта вызвало значительные изменения: падение общего белка и альбуминов и особенно маркеров повреждения печеночных клеток: общего билирубина в 2 раза, активности ферментов АСТ, АЛТ и ГГТ в 4 – 5 раз. Значительный рост мочевины может говорить о выраженной патологии почек, сопровождающий печеночный дисбаланс в этой ситуации.

Таблица 2 – Биохимические показатели крови крыс после интоксикации четырёххлористым углеродом в дозе 0,2 мл/кг массы

Показатель	Контроль 1	Контроль 2 (CCl ₄)	Опыт 1 (CCl ₄ +Лив 52)	Опыт 2 (CCl ₄ +Зигбир)
1	2	3	4	5
Общий белок, г/л	83,71±3,7	63,01±2,71*	72,97±3,21	66,48±6,34
Альбумины, г/л	44,57±2,12	30,53±2,89*	42,73±0,72 [#]	41,72±2,56 [#]
Глобулины, г/л	39,13±3,13	32,72±2,71	30,21±2,05*	24,33±1,23* [#]

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4	5
Холестерин, ммоль/л	2,32±0,38	1,64±0,17	1,72±0,16	1,95±0,13
Мочевина, ммоль/л	2,78±0,22	17,49±2,45*	22,64±3,14*	25,79±4,54*
АЛТ, Ед/л	82,61±10,76	345,33±26,71*	250±10,88* [#]	311±13,12*
АСТ, Ед/л	77,25±9,24	244±12,11*	185±20,54* [#]	214±21,35*
ГГТ, Ед/л	48,56±10,12	211±15,34*	143±10,09* [#]	185±12,01*
Билирубин общий, мкмоль/л	5,59±1,11	10,83±1,32*	9,32±2,14*	10,82±3,22*

Примечание: * - $p < 0,05$ – относительно 1-ой контрольной группы,

- $p < 0,05$ – относительно 2-ой контрольной группы.

В опытных группах снижение общего белка имело более умеренный характер и особенно фракции альбуминов, что указывает на менее значительные повреждения печени при введении гепатопротекторов.

Наиболее явным показателем гепатопротекторного эффекта является значительно меньший рост показателей активности трансаминаз крови в обеих опытных группах. Статистически достоверно ниже оказалась активность АсАТ, АлАТ и ГГТ в 1 опытной группе по отношению ко 2 контрольной группе, что указывает на меньший лизис клеток печени. Зигбир оказал менее значительный гепатопротекторный эффект.

Таблица 3 – Антиоксидантные показатели крови крыс после интоксикации четырёххлористым углеродом в дозе 0,2 мл/кг массы

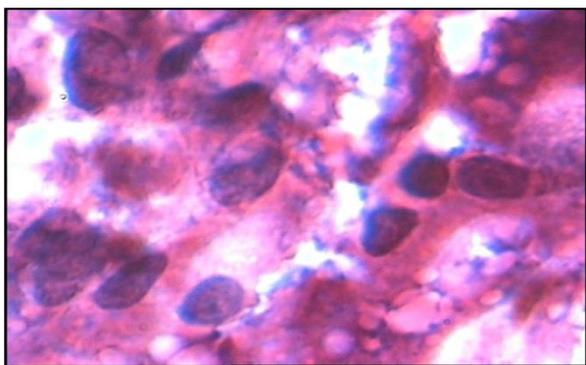
Показатель	Контроль 1	Контроль 2 (CCl ₄)	Опыт 2 (CCl ₄ +Лив 52)	Опыт 3 (CCl ₄ +Зигбир)
GSH, ммоль/л	0,72±0,05	0,65±0,11	0,69±0,07	0,71±0,08
ТБКРС, мкмоль/л	3,51±1,58	9,23±2,34*	8,18±1,34*	8,32±1,11*
Каталаза, нмоль/мин.л	38,2±4,21	56,17±7,11*	55,36±9,87*	61,22±10,01*
ГПО, нмоль/мин.л	4,12±0,21	4,87±1,12	5,12±0,89	3,32±1,42

Примечание: * - $p < 0,05$ – относительно 1-ой контрольной группы,

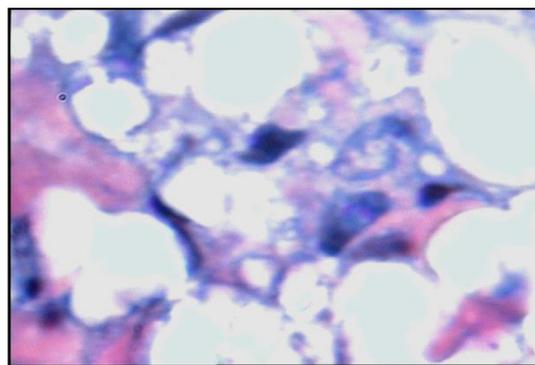
- $p < 0,05$ – относительно 2-ой контрольной группы.

Показатели перекисидации липидов и антиоксидантой защиты организма указывают на достоверное усиление свободно-радикального окисления во 2 контрольной группе. Основное токсическое действие CCl₄ связано с его проксидантным действием и превращением в активный метаболит CCl₃[·]. Применяемые препараты не оказали заметного эффекта на исследуемые показатели.

При гистологическом исследовании печени крыс получены следующие результаты; гепатоциты крысы 1-ой контрольной группы неправильной многоугольной формы, их средний поперечный размер составлял 268,2 мкм, 8% клеток содержали два ядра, средний диаметр ядер 8,39 мкм, ядрышек – 2,15 мкм (рис. 1а). Печень без видимых признаков патологии.



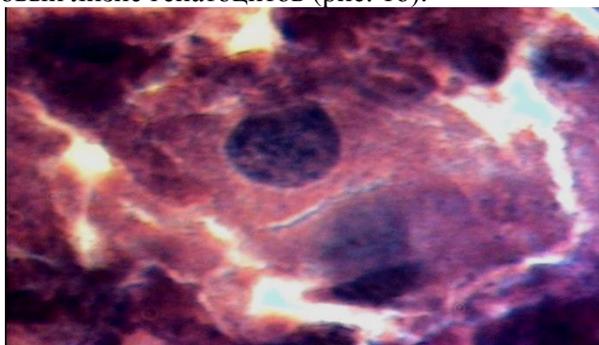
а) Печень крысы, 1-ая контрольная группа



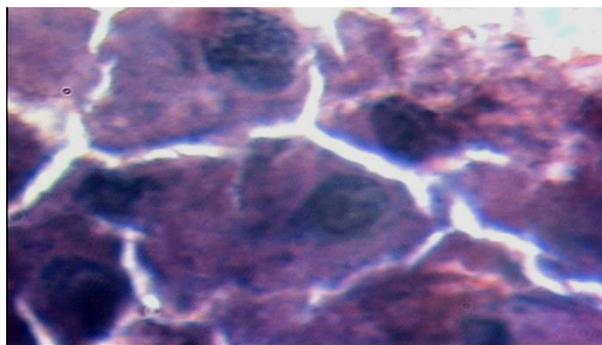
б) Печень крысы, 2-ая контрольная группа

Рисунок 1 – Гематоксилин – эозин. Микрофото. Ув.: $\times 240$

Печень крысы из 2-ой контрольной группы имеет значительные повреждения, выражен массивный лизис гепатоцитов (рис. 1б).



а) Печень крысы 1 опытной группы (Лив 52 и CCl_4)



б) Печень крысы 2 опытной группы (Зигбир и CCl_4)

Рисунок 2 – Гематоксилин – эозин. Микрофото. Ув.: $\times 240$

На рисунке 2 (а и б) представлены гистологические фотографии печени крыс, получавших препараты. Явления гепатозо-гепатита и лизис клеток значительно менее выражен по сравнению со 2-ой контрольной группой. Средний размер гепатоцитов составил 257,0 мкм, что ниже контроля на 11,3% ($P < 0,05$). Два ядра содержали 9,5% клеток, средний диаметр ядер – 7,91 мкм (ниже на 6,01%, $P < 0,05$), а ядрышек – 2,21 мкм (больше на 2,9%). Достоверных различий между препаратами не обнаружено, что может указывать на их сходную активность. Действие Лив 52 сходно с действием Зигбир: желчегонный эффект, стимуляция печеночного метаболизма, умеренная антиоксидантная активность.

Таким образом, исходя из данных гистологических исследований, можно сделать вывод: все исследуемые кормовые добавки обладают гепатопротекторным эффектом на фоне токсичности четыреххлористого углерода морфологически в равной степени.

Выводы. Полученные в ходе исследования данные позволяют сделать ряд выводов:

Гепатопротекторный эффект хорошо проявляется у крыс, получавших как Лив 52, так и Зигбир при введении им умеренной токсической дозы четыреххлористого углерода. Не выявлено существенных различий в действии обеих растительных кормовых добавок.

Исходя из вышеприведенных результатов, можно рекомендовать применение изучаемых растительных комбинаций в целях профилактики поражений и нормализации функции печени и обмена веществ животных, увеличении содержания белка в крови.

Библиографический список

1. Калюжный И.И., Баринов Н.Д. Поражение печени у высокопродуктивных коров при нарушении обмена веществ // Вестник Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова. 2013. № 8. С. 7-11.
2. Губергриц Н.Б. Хронические гепатиты и циррозы печени. Современная классификация, диагностика и лечение. Донецк: ООО «Лебедь», 2002. 166 с.
3. Денисенко В.Н. Диагностика, лечение и профилактика болезней печени у животных: лекция. М.: МГАВМиБ им. К.И. Скрябина, 2002. 50 с.
4. Диагностическое значение биохимических показателей крови при гепатопатологиях / Е.В. Кузьминова, М.П. Семененко, Е.А. Старикова, Т.В. Михалева // Ветеринария Кубани. 2013. № 5. С. 11-13.
5. Самотин А.М. Гепатотропные препараты и их применение крупному рогатому скоту: автореф. дис. ... д-ра вет. наук: 16.00.01, 03.00.04. Воронеж, 2002. 48 с.

6. Гепатоцит: функционально-метаболические свойства / под ред. Л.Д. Лукьяновой. М.: Наука, 1985. 271 с.
7. The involvement of p62-Keap1-Nrf2 antioxidative signaling pathway and JNK in the protection of natural flavonoid quercetin against hepatotoxicity / L.L. Ji, et all. // *Free RadicBiol Med.* 2015. Vol. 85. P. 12-23.
8. Preliminary evaluation of hepatoprotective potential of the polyherbal formulation / G. Arka et all. // *J IntercultEthnopharmacol.* 2015. Vol. 4, № 2. P. 118-124.
9. Veitch N.C. New about antioxidant enzymes // *Phytochemistry.* 2004. Vol. 65, № 3. P. 249–259.
10. Phytochemical analysis and hepatoprotective effect of polyherbal formulation on CCl₄ induced hepatotoxicity in mice / F.S. Khan et all. // *Pak J Pharm.* 2018. Vol. 31, № 6 (Supplementary). P. 2719-2723.
11. Evaluation of hepatoprotective activity of melilotus officinalis l. Against paracetamol and carbon tetrachloride induced hepatic injury in mice / N.Z. Alamgeer et all. // *Acta Pol Pharm.* 2017. Vol. 74, № 3. P. 903-909.
12. Liver metabolomics study reveals protective function of Phyllanthus urinaria against CCl₄-induced liver injury / Q. Guo et all. // *Chin J Nat Med.* 2017. Vol. 15, № 7. P. 525-533.
13. Методы ветеринарной клинической лабораторной диагностики: справочник / под ред. проф. И.П. Кондрахина. М.: КолосС, 2004. 520 с.
14. Холод В.М., Курденко А.П. Клиническая биохимия: учеб. пособие // УО ВГАВМ, 2005. Ч. 2. 170 с.
15. Stocks J., Dormandy L. The auto oxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide // *British Journal of Haematology.* 1971. Vol. 20. P. 95 - 111.
16. Матюшин Б.Н., Ткачев В.Д. Определение пероксидации липидов в биоптате печени (методика и клиническое значение) // Цирроз печени (клиника, диагностика, лечение): сб. науч. тр. / под ред. А.С. Логинова. М., 1990. С. 9–13.

References

1. Kalyuzhnyiyy I.I., Barinov N.D. Porazhenie pecheni u vyisokoproduktivnykh korov pri narushenii obmena veschestv // *Vestnik Saratovskogo GAU im. N.I. Vavilova.* 2013. № 8. S. 7-11.
2. Gubergrits N.B. Hronicheskie gepatity i tsirrozy pecheni. *Sovremennaya klassifikatsiya, diagnostika i lechenie.* Donetsk: OOO «Lebed», 2002. 166 s.
3. Denisenko V.N. *Diagnostika, lechenie i profilaktika bolezney pecheni u zhivotnykh: lektsiya.* М.: MGAVMiB im. K.I. Skryabina, 2002. 50 s.
4. *Diagnosticheskoe znachenie biohimicheskikh pokazateley krovi pri gepatopatologiyah* / E.V. Kuzminova, M.P. Semenenko, E.A. Starikova, T.V. Mihaleva // *Veterinariya Kubani.* 2013. № 5. S. 11-13.
5. Samotin A.M. *Gepatotropnyie preparaty i ih primenenie krupnomu rogatomu skotu: avtoref. dis. ... d-ra vet. nauk: 16.00.01, 03.00.04.* Voronezh, 2002. 48 s.
6. *Gepatotsit: funktsionalno-metabolicheskie svoystva / pod red. L.D. Lukyanovoy.* М.: Nauka, 1985. 271 s.
7. The involvement of p62-Keap1-Nrf2 antioxidative signaling pathway and JNK in the protection of natural flavonoid quercetin against hepatotoxicity / L.L. Ji, et all. // *Free RadicBiol Med.* 2015. Vol. 85. P. 12-23.
8. Preliminary evaluation of hepatoprotective potential of the polyherbal formulation / G. Arka et all. // *J IntercultEthnopharmacol.* 2015. Vol. 4, № 2. P. 118-124.
9. Veitch N.S. New about antioxidant enzymes // *Phytochemistry.* 2004. Vol. 65, № 3. P. 249–259.
10. Phytochemical analysis and hepatoprotective effect of polyherbal formulation on CCl₄ induced hepatotoxicity in mice / F.S. Khan et all. // *Pak J Pharm.* 2018. Vol. 31, № 6 (Supplementary). P. 2719-2723.
11. Evaluation of hepatoprotective activity of melilotus officinalis l. Against paracetamol and carbon tetrachloride induced hepatic injury in mice / N.Z. Alamgeer et all. // *Acta Pol Pharm.* 2017. Vol. 74, № 3. P. 903-909.
12. Liver metabolomics study reveals protective function of Phyllanthus urinaria against CCl₄-induced liver injury / Q. Guo et all. // *Chin J Nat Med.* 2017. Vol. 15, № 7. P. 525-533.
13. *Metodyi veterinarnoy klinicheskoy laboratornoy diagnostiki: spravochnik / pod red. prof. I.P. Kondrahina.* М.: KolosS, 2004. 520 s.
14. Holod V.M., Kurdenko A.P. *Klinicheskaya biohimiya: ucheb. posobie* // УО ВГАВМ, 2005. Ч. 2. 170 s.
15. Stocks J., Dormandy L. The auto oxidation of human red cell lipids induced by hydrogen peroxide // *British Journal of Haematology.* 1971. Vol. 20. P. 95 - 111.
16. Matyushin B.N., Tkachev V.D. *Opredelenie peroksidatsii lipidov v bioplate pecheni (metodika i klinicheskoe znachenie) // Tsirroz pecheni (klinika, diagnostika, lechenie): sb. nauch. tr. / pod red. A.S. Loginova.* М., 1990. S. 9–13.