

# Зовнішньосекреторна функція печінки щурів в умовах блокади андрогенових рецепторів флутамідом

І.С. Чернуха<sup>1</sup>, Є.М. Решетнік<sup>1</sup>, С.П. Весельський<sup>1</sup>, О.Г. Резніков<sup>2</sup>, М.Ю. Макарчук<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка;

<sup>2</sup>Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України, Київ;  
e-mail: chernuhairina17@gmail.com

*Досліджено ефекти флутаміду (25 мг/кг, інтрагастрально, щоденно впродовж 3 діб) на жовчосекреторну функцію печінки лабораторних щурів-самців у гострих досліджах in vivo та проаналізовано жовчнокислотний склад їх жовчі. Слід відзначити зниження об'ємної швидкості секреції жовчі, а також вмісту глікокон'югатів жовчних кислот у печінковому секреті під впливом блокатора андрогенових рецепторів. Так, концентрація тригідроксихоланової глікохолової кислоти у жовчі самців щурів на яких впливав флутамід була на 16,3 – 34,5 % нижчою, ніж у пробах тварин контрольної групи. При цьому коефіцієнт кон'югації холатів, розрахований як загальне співвідношення кон'югованих жовчних кислот до вільних, не змінювався, а коефіцієнт гідроксилювання жовчних кислот виявився меншим від контролю на 10,1 %. Таким чином, флутамід виявив істотний пригнічувальний вплив на процеси кон'югації холатів із гліцином та транспорт глікокон'югатів у жовч. Ключові слова: печінка; жовч; жовчні кислоти; рецептори андрогенів; флутамід.*

## ВСТУП

Відомо, що гормони репродуктивної системи – естрогени, пролактин, фолітропін, прогестерон – чинять суттєвий вплив на холангіоцити, утворення та секрецію жовчі [1-3]. Ймовірна участь тестостерону у цих процесах підтверджується наявністю рецепторів андрогенів у гепатоцитах і холангіоцитах [4-6]. Дійсно, кастрація щурів або нейтралізація циркулюючого тестостерону антитілами зменшує масу печінкових проток, викликає апоптоз холангіоцитів, а замісне його введення перешкоджає їх загибелі [6]. Однак більш оптимальним підходом до вивчення ролі ендогенного тестостерону у фізіологічних та патологічних процесах, зокрема, у діяльності печінки і жовчовивідних проток, слід вважати використання антиандрогенів – селективних блокаторів рецепторів андрогенів, зокрема, флутаміду.

Антиандрогени доволі часто застосовуються у медичній практиці оскільки, конку-

руючи з тестостероном і дигідротестостероном за андрогенні рецептори в клітинних ядрах, спричиняють пригнічення росту та апоптоз клітин злоякісної пухлини передміхурової залози. Препарати антиандрогенів поділяють залежно від їх хімічної структури на стероїдні (ципротерону ацетат, мегестролу ацетат, медроксипрогестерону ацетат) і нестероїдні (нілутамід, флутамід, бікалутамід). Обидва класи препаратів конкурентно зв'язуються з андрогенними рецепторами. Проте стероїдні антиандрогени мають також центральну дію, що пов'язана з їх прогестинними властивостями. Нестероїдні антиандрогени перешкоджають взаємодії тестостерону і дигідротестостерону з відповідними рецепторами, не впливаючи на продукцію ендогенних андрогенів. Також ця група препаратів знижує внутрішньоклітинну концентрацію тестостерону і дигідротестостерону. При цьому сироватковий вміст тестостерону збільшується за принципом зворотного негативного зв'язку. Частина надлишкового

© І.С. Чернуха, Є.М. Решетнік, С.П. Весельський, О.Г. Резніков, М.Ю. Макарчук

сироваткового тестостерону конвертується в естрогени, що зумовлює розвиток відповідних побічних ефектів [7-10].

Першим нестероїдним антиандрогеном, що застосовувався в монотерапії, був флутамід. Він не має супутньої гормональної активності і не пригнічує секрецію гіпофізарних гонадотропінів [9-10]. Прийом флутаміду супроводжується не тільки зменшенням гіперандрогенних проявів, а й зниженням вмісту загального холестерину, ліпопротеїнів низької щільності та тригліцеридів [11]. Наразі він широко використовується для лікування раку передміхурової залози [9], але і має побічні ефекти, в тому числі може викликати холестатичний і фульмінантний гепатити [12]. Флутамід метаболізується у гепатоцитах з утворенням активних проміжних продуктів [13], пригнічує перенесення таурохолевої кислоти у клітинах печінки. Блокатор і його основний метаболіт 2-гідроксифлутамід викликають гальмування транспорту екзогенного таурохолату у гепатоцитах [14]. Відома значна фізіологічна роль жовчних кислот, як обов'язкових компонентів жовчі ссавців і специфічних продуктів холестеринового обміну у гепатоцитах [3]. Враховуючи особливості дії флутаміду на транспорт холатів, при його застосуванні очікуваними можуть бути порушення численних функцій гепатобіліарної системи й перебігу процесів травлення.

Метою нашого дослідження було вивчення впливу флутаміду на секрецію жовчі та її жовчнокислотний склад у самців щурів.

## МЕТОДИКА

Дослідження ефектів флутаміду проведено на самцях щурів (0,18 – 0,23 кг, n=8), які знаходилися на стандартному раціоні виварію. Тваринам протягом 3 діб інтрагастрально вводили блокатор рецепторів тестостерону флутамід (розведений пропіленгліколем) у дозі 25 мг/кг, а контрольній групі щурів (0,18 – 0,23 кг, n=6) – 3 доби воду з відповідною кількістю пропіленгліколю. Дослідження

жовчосекреторної функції печінки та відбір зразків жовчі проводили *in vivo* у гострих експериментах, використовуючи для наркотизації тіопентал натрію в дозі 60 мг/кг. Перед оперативним втручанням тварин піддавали харчовій депривації, але при цьому вони мали вільний доступ до води. Всі експерименти над тваринами виконували з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин та Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження».

Після лапаротомії канюлювали жовчну протоку і через 30 хв стабілізації стану тварини здійснювали впродовж наступних 3 год гострого досліду забір 18 10-хвилинних проб жовчі. Кожні 3 порції жовчі збирали до одного епендорфа та надалі аналізували вміст різних холатів у кожному 30-хвилинному зразку жовчі. Середню об'ємну швидкість секреції жовчі розраховували як об'єм печінкового секрету, що виділяється за 1 хв з розрахунку на 1 г печінки [1].

Методом тонкошарової хроматографії, удосконаленим у нашій лабораторії, визначали концентрацію жовчних кислот і ліпідів у 30-хвилинних пробах жовчі [15]. Для екстракції жовчних кислот із жовчі використовували ацетонетанольну суміш (3:1), центрифугуючи після витримання в морозильній камері. Висушений екстракт розчиняли у суміші етанол-вода (6:4). Хроматографічну пластинку з пробами поміщали у камеру з системою розчинників: аміловий ефір оцтової кислоти:толуол:бутанол:оцтова кислота:вода (3:1:1:3:1). Після фарбування хроматограм здійснювали кількісне визначення вмісту жовчних кислот за допомогою денситометра ДО-1 ( $\lambda=620\text{nm}$ ) за калібрувальними кривими. Використаний метод дав змогу визначати у жовчі щурів такі фракції жовчних кислот: таурохолеву, таурохенодезоксихолеву і тауродезоксихолеву (у суміші), глікохолеву, глікохенодезоксихолеву і глікодезоксихолеву (у суміші), холеву, хенодезоксихолеву і дезоксихолеву (у суміші). За значеннями концентрацій кон'югованих та вільних холатів розраховували коефіцієнти

кон'югації (співвідношення суми кон'югованих жовчних кислот до суми вільних) і гідроксилювання (співвідношення суми тригідроксихоланових жовчних кислот до суми дигідроксихоланових) та співвідношення глікокон'югатів до таурокон'югатів жовчних кислот.

Отримані результати статистично обробляли за допомогою пакета програм Statistica 5.0 («Stat Soft», США) з використанням критерію t Стьюдента при нормальному розподілі, який оцінювали за допомогою тесту Шапіро-Уїлка. Статистично значущими вважали відмінності при  $P \leq 0,05$  [16].

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

У щурів, які протягом 3 діб отримували інтрагастрально флутамід (25 мг/кг), знижувалася середня об'ємна швидкість секреції жовчі порівняно з контролем. Кількість жовчі за весь час гострого дослідження виявляється на 27,5% ( $P < 0,05$ ) меншою порівняно з контрольними тваринами (рис. 1).

Концентрація таурокон'югатів жовчних кислот статистично значимо не змінювалася

порівняно з контрольною групою тварин. Тоді як вміст у печінковому секреті глікокон'югатів жовчних кислот суттєво зменшувався. Так, концентрація тригідроксихоланової глікохолової кислоти у жовчі самців щурів була на 16,3 – 34,5 % ( $P < 0,05$ ) нижчою, ніж у контролі (табл. 1). Під впливом флутаміду концентрація у жовчі самців щурів дигідроксихоланових глікокон'югатів, визначених нами як суміш глікохенодезоксихолової та глікодезоксихолової кислот, виявилася у четвертій і п'ятій пробах нижчою від контрольних значень на 46,75 та 42,62 % ( $P < 0,05$ ) відповідно (див. табл. 1). При цьому вміст у печінковому секреті вільних (некон'югованих) холатів, як три-, так і дигідроксихоланових, суттєво не відрізнявся від контрольних значень (табл. 2).

Певною мірою концентрація вільних жовчних кислот у жовчі відображає інтенсивність їх синтезу, який відбувається у гепатоцитах двома основними шляхами: так званим «класичним», ключовою ферментативною реакцією якого є 7 $\alpha$ -гідроксилювання холестерину за участі CYP7A1 та «кислим» – із залученням мітохондріальної 27-гідроксилази

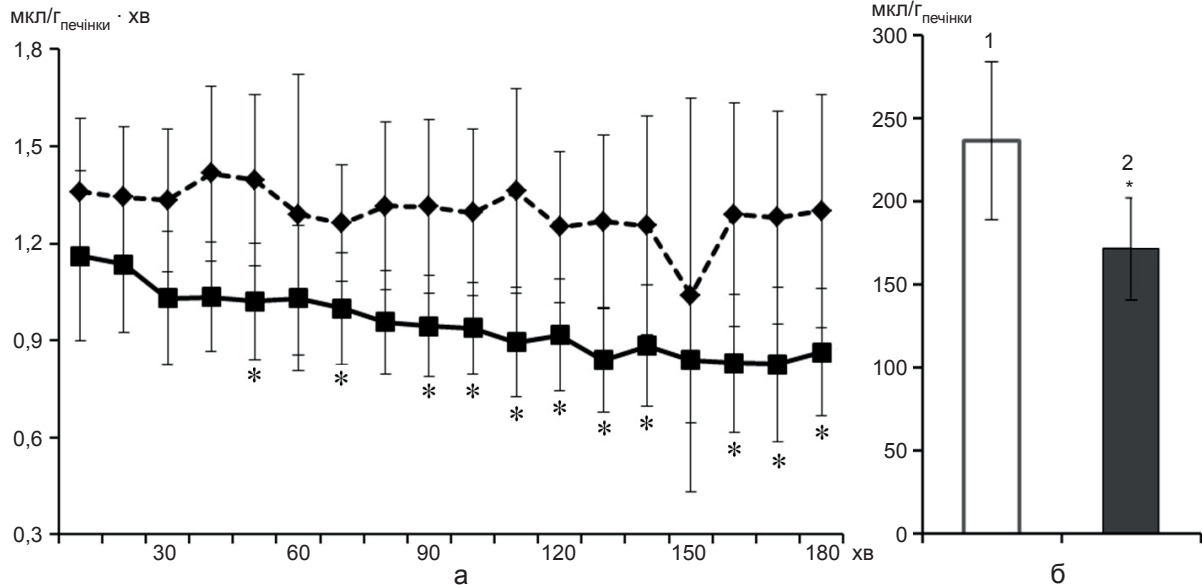


Рис. 1. Швидкість холерезу (а) та кількість продукованої за весь гострий дослід жовчі (б) печінкою самців щурів після 3-добового інтрагастрального введення флутаміду (25 мг/кг): 1 – контроль, 2 – флутамід.

\*  $P < 0,05$  порівняно із контролем

**Таблиця 1. Концентрація (мг%) кон'югованих жовчних кислот у жовчі щурів-самців під впливом флутаміду (25 мг/кг, інтрагастрально, протягом 3 діб)**

Проби жовчі	Серія дослідів	Таурохолева кислота	Таурохенодезоксиколева і тауродезоксиколева кислоти	Глікохолева кислота	Глікохенодезоксиколева і глікодезоксиколева кислоти
1	Контроль	203,82±40,97	112,34±15,66	137,16±9,47	37,84±15,33
	Флутамід	200,35±35,77	110,93±14,50	137,32±6,94	30,12±6,67
2	Контроль	199,84±38,60	114,96±14,76	134,50±6,52	34,82±11,52
	Флутамід	198,07±34,20	110,75±15,87	112,63±7,23***	24,10±8,44
3	Контроль	194,62±38,07	113,26±13,98	134,66±12,17	33,68±13,90
	Флутамід	195,10±29,38	111,48±12,25	106,10±19,64*	21,67±6,14
4	Контроль	190,02±35,80	107,80±13,81	124,26±14,92	31,70±10,12
	Флутамід	195,68±28,84	108,38±11,40	92,20±12,70**	16,88±4,45**
5	Контроль	185,82±38,16	103,32±13,17	122,06±8,34	28,46±7,99
	Флутамід	195,87±28,15	109,38±8,47	84,23±14,53***	16,33±3,40**
6	Контроль	179,50±36,24	96,90±12,94	114,86±9,77	26,12±9,81
	Флутамід	191,77±26,36	106,42±10,40	75,23±8,51***	17,00±3,93

\* P&lt;0,05, \*\* P&lt;0,01, \*\*\* P&lt;0,001 порівняно з контролем

СУР27A1 [17]. Виходячи з отриманих нами результатів можемо припустити, що 3-добове навантаження організму самців щурів флутамідом у дозі 25 мг/кг не викликає статистично значимих змін вмісту вільних холатів, а отже, не виявляє істотного ефекту на ферментативні системи синтезу жовчних кислот. При цьому не змінювався коефіцієнт кон'югації холатів, котрий характеризує кінцевий етап утворення жовчних кислот, що надалі надхо-

дять до первинних жовчних каналікул (рис. 2, а). Але слід відзначити, що для останньої півгодинної проби жовчі самців щурів, які знаходилися під впливом флутаміду коефіцієнт гідроксилювання виявився меншим від контролю на 10,1 % (P<0,05; див. рис. 2, б). Отже, можливо, що при дії блокатора більш активно відбувалося утворення первинних жовчних кислот альтернативним «кислим» шляхом.

**Таблиця 2. Концентрація (мг%) вільних жовчних кислот у жовчі щурів-самців під впливом флутаміду (25 мг/кг, інтрагастрально, протягом 3 діб)**

Проби жовчі	Серія дослідів	Холева кислота	Хенодезоксиколева і дезоксиколева кислоти
1	Контроль	19,52±1,97	10,30±2,44
	Флутамід	21,93±4,43	11,88±3,97
2	Контроль	20,54±2,89	10,20±1,57
	Флутамід	21,38±5,85	10,83±4,19
3	Контроль	20,14±3,57	9,88±1,45
	Флутамід	20,67±5,78	10,30±3,47
4	Контроль	19,28±3,00	9,96±1,74
	Флутамід	19,65±7,31	10,03±3,91
5	Контроль	18,96±2,47	9,54±1,49
	Флутамід	18,50±6,27	9,53±3,36
6	Контроль	18,00±2,73	8,70±1,35
	Флутамід	17,10±5,49	9,13±3,74

Під впливом флутаміду найістотніших змін зазнало співвідношення гліко- і таурокон'югатів жовчних кислот жовчі. Порівняно з контролем цей показник зменшується на 23,6 – 40,4 % ( $P < 0,05$ ) у 3-6-й пробах жовчі відповідно (див. рис. 2, в). Отже, у наших дослідах флутамід виявив істотний пригнічувальний вплив на процеси кон'югації холатів із гліцином та транспорт глікокон'югатів у жовч. Саме кон'югація з гліцином є одним із найбільш консервативних і важливих шляхів детоксикації [18], а відтак, механізми впливу флутаміду на утворення і надходження глікокон'югатів жовчних кислот до жовчних каналців потребують подальшого дослідження. Раніше нами було показано, що у самців щурів вміст глікохолатів у жовчі значно вищий, ніж у самиць, а введення екзогенного естрогену самцям призводить до пригнічення кон'югації холатів. Крім того, він стимулював у самців синтез жовчних кислот «кислим» шляхом [1]. Можливо, що виявлені ефекти флутаміду пов'язані саме з характерним для його застосування зростанням концентрації сироваткового тестостерону, який конвертується в естрогени [7-10] і надалі, власне, спостерігаються вже їх ефекти на розглянуті нами показники жовчоутворення.

Здатність флутаміду впливати на жовчно-кислотний обмін у печінці та функціонування

транспортних систем, які переносять холати до жовчних каналців має непересічне значення для функціонування всього організму. Жовчні кислоти можуть виявляти осмотичні та неосмотичні холеретичні ефекти, діючи на внутрішньоклітинний транспорт компонентів жовчі та змінюючи стан каналікулярного домену плазматичної мембрани гепатоцитів [19], а отже, флутамід, впливаючи на секрецію холатів може істотно змінити їх участь у регуляції жовчоутворення. Також жовчні кислоти є регуляторними сполуками, які постійно є у крові та виявляють численні ефекти на різні процеси, опосередковуючи свій вплив ядерними фарнезоїдними (FXR) та GPBAR1-рецепторами, які знаходяться в багатьох тканинах [20].

У патогенезі флутамідіндукованого холестази певну роль відіграє гальмування екскреції солей жовчних кислот експортною помпою BSEP [18] та жовчних кислот транспортером ABCB4 [16]. Властиву флутаміду здатність впливати на процеси, що забезпечують утворення і транспорт жовчних кислот слід враховувати при його застосуванні.

На підставі отриманих експериментальних результатів ми дійшли висновку, що флутамід (25 мг/кг, інтрагастрально, протягом 3 діб) зменшує швидкість секреції жовчі печінкою самців щурів і викликає пригнічення утворення та надходження глікокон'югатів

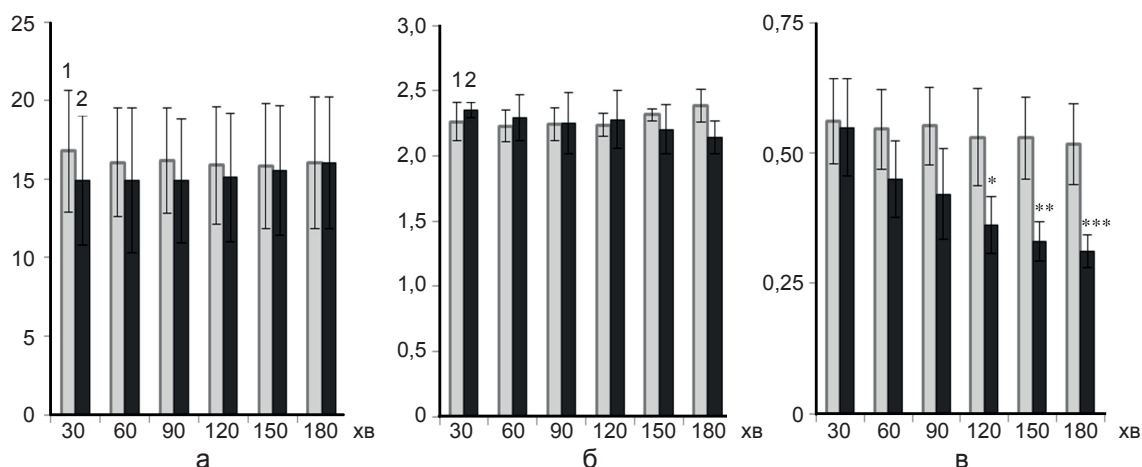


Рис 2. Коефіцієнти кон'югації (а) і гідроксилування (б) та співвідношення гліко- і таурокон'югатів (в) жовчних кислот жовчі самців щурів при дії флутаміду (25 мг/кг, інтрагастрально): 1 – контроль; 2 – флутамід

\*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  порівняно із контролем



жовчних кислот у жовчні каналці, що призводить до перерозподілу загального пулу жовчних кислот у внутрішньому середовищі організму, а відтак викликати зміни регуляторних ефектів, які здійснюються холатами.

*The authors of this study, I.S. Chernuha, Ye.M. Reshetnik, S.P. Veselsky, A.G. Reznikov, M.Yu. Makarchuk, confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of co-authors of the article.*

**И.С. Чернуха<sup>1</sup>, Е.Н. Решетник<sup>1</sup>, С.П. Весельский<sup>1</sup>, А.Г. Резников<sup>2</sup>, Н.Ю. Макачук<sup>1</sup>**

### **ВНЕШНЕСЕКРЕТОРНАЯ ФУНКЦИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ БЛОКАДЫ АНДРОГЕННЫХ РЕЦЕПТОРОВ ФЛУТАМИДОМ**

Исследованы эффекты флутамида (25 мг/кг, интрагастрально, ежедневно в течение 3 сут) на желчсекреторную функцию печени лабораторных крыс-самцов в острых опытах *in vivo* и проанализировано желчкислотный состав их желчи. Следует отметить снижение объемной скорости секреции желчи, а также содержания гликоконъюгатов желчных кислот в печеночном секрете под влиянием блокатора андрогенных рецепторов. Так, концентрация тригидроксиолоановой гликохолевой кислоты в желчи самцов крыс на которых влиял флутамид была на 16,3 – 34,5 % ниже, чем в пробах животных контрольной группы. При этом коэффициент конъюгации холатов, рассчитанный как общее соотношение конъюгированных желчных кислот до свободных, не менялся, а коэффициент гидроксирования желчных кислот оказался меньше контроля на 10,1 %. Таким образом, флутамид оказал существенное угнетающее влияние на процессы конъюгации холатов с глицином и транспорт гликоконъюгатов в желчь. Ключевые слова: печень; желчь; желчные кислоты; рецепторы андрогенов; флутамид.

**I.S. Chernuha<sup>1</sup>, Ye.M. Reshetnik<sup>1</sup>, S.P. Veselsky<sup>1</sup>, A.G. Reznikov<sup>2</sup>, M.Yu. Makarchuk<sup>1</sup>**

### **THE RATS LIVER EXTERNAL SECRETORY FUNCTION IN BLOCKADE OF ANDROGEN RECEPTORS WITH FLUTAMIDE**

The effects of flutamide (25 mg / kg, intragastric, daily, for three days) on bile formation in male rats were investigated. The volume rate of bile secretion decreased in male rats under

the influence of flutamide. It was found a significant reduction of the glycoconjugated bile acids concentration in the bile of the male rats under flutamide action. So, glycochenodeoxycholate and glycodeoxycholate concentration in the bile are significantly lower (16,3 – 34,5 %) in male rats under the flutamide action than in bile samples of the control group animals. But it was found that flutamide does not change the ratio of the total conjugated bile acids to unconjugated bile acids. Flutamide inhibits hydroxylation of bile acids in the male rats. The coefficient of the bile acids hydroxylate is decreased under the influence of flutamide compared to control by 10,1%. Thus, flutamide decreases bile flow, conjugation of the bile acids with glycine and glycoconjugates transport into the bile. Key words: liver; bile; bile acid; androgen receptors; flutamide.

<sup>1</sup> Kyiv National Taras Shevchenko University

<sup>2</sup> V.P. Komisarenko Institute of Endocrinology and Metabolism Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv; e-mail: chernuhairina17@gmail.com

### **REFERENCES**

1. Klimyuk OV, Bonzik OV, Reshetnik EM, Veselsky SP, Makarchuk MYu. Peculiarities of bile formation in rats of different sex in estron influence. *Fiziol Zh.* 2011;57(6): 52-8. [Ukrainian].
2. Glaser S, DeMorrow S, Francis H, Ueno Y, Gaudio E, Vaculin S, Venter J, Franchitto A, Onori P, Vaculin B, Marziani M, Wise C, Palthananond M, Savage J, Pierce L, Mancinelli R, Alpini G. Progesterone stimulates the proliferation of female and male cholangiocytes via autocrine/paracrine mechanisms. *J Physiol Gastro Liver Physiol.* 2008;295(1):124-36.
3. Mancinelli R, Onori P, Gaudio E, DeMorrow S, Franchitto A, Francis H, Glaser S, Carpino G, Venter J, Alvaro D, Kopriva S, White M, Kossie A, Savage J, Alpini G. Follicle-stimulating hormone increases cholangiocyte proliferation by an autocrine mechanism via cAMP-dependent phosphorylation of ERK1/2 and Elk-1. *J Physiol Gastro Liver Physiol.* 2009;297(1):11-6.
4. Hinchliffe SA, Woods S, Gray S, Burt AD. Cellular distribution of androgen receptors in the liver. *J Clin Pathol.* 1996;49(5):418-20.
5. Ma WL, Hsu CL, Wu MH, Wu CT, Wu CC, Lai JJ, Jou YS, Chen CW, Yeh S, Chang C. Androgen receptor is a new potential therapeutic target for the treatment of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenter.* 2008;135(3):947-55.
6. Yang F, Priester S, Onori P, Venter J, Renzi A, Franchitto A, Munshi MK, Wise C, Dostal DE, Marziani M, Saccomanno S, Ueno Y, Gaudio E, Glaser S. Castration inhibits biliary proliferation induced by bile duct obstruction: novel role for the autocrine trophic effect of testosterone. *J Physiol Gastro Liver Physiol.* 2011;301(6):981-91.
7. Reznikov AG Reproductive endocrinology: from basic research to clinical medicine. *Health Ukr Reproductol.* 2012;2:16-7. [Russian].
8. Reznikov OG, Chaikovska LV, Polyakova LI, Sachynska

- OV, Yanishevsky OV. Age-related peculiarities of the response of male rat reproductive system to letrozole. *J Endocrin.* 2015;20(1):425-30. [Ukrainian].
9. Reichert ZR, Hussain M. Androgen Receptor and Beyond, Targeting Androgen Signaling in Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Cancer.* 2016;22(5):326-29.
  10. Yasui M, Uemura K, Yoneyama S, Kawahara T, Hattori Y, Teranishi J-i, Inoue M, Ohta J-i, Yokomizo Y, Yao M, Uemura H, Miyoshi Y. Predictors of poor response to secondary alternative antiandrogen therapy with flutamide in metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol.* 2016;46(11):1042-46.
  11. Kapshuk IM. Features of treatment of polycystic ovary syndrome on the overweight background. *Reprod Endocrin.* 2015;5(25):21-6. [Ukrainian].
  12. Gao X, Xie C, Wang Y, Luo Y, Yagai T, Sun D, Qin X, Krausz KW, Gonzalez FJ. The antiandrogen flutamide is a novel aryl hydrocarbon receptor ligand that disrupts bile acid homeostasis in mice through induction of Abcc4. *Biochem. Pharmacol.* 2016;1(119):93-104.
  13. Kostrubsky SE, Strom SC, Ellis E, Nelson SD, Abdul E. Mutlib Transport, metabolism, and hepatotoxicity of flutamide, drug-drug interaction with acetaminophen involving phase I and phase II metabolites. *Chem Res Toxicol.* 2007;20(10):1503-12.
  14. Iwanaga T, Nakakariya M, Yabuuchi H, Maeda T, Tamai I. Involvement of bile salt export pump in flutamide-induced cholestatic hepatitis. *Biol Pharm Bull.* 2007;30(4):739-44.
  15. С.с. 4411066/14 USSR, MBI G 01 N33/50. A method of determining bile acids in biological fluids / SP. Veselsky, PS. Liashenko, IA. Lykianenko (USSR). – № 1624322; Stat. 25.01.1988; publ. 30.01.1991, Bull. №4.
  16. Filimonova NB, Fil IO, Mikhailova TS. Statistical analysis of data pursuant to the science-based medicine. Initial analysis of quantitative data, experimental results presentation. *Med Railway Transport of Ukr.* 2004;4:30-8. [Ukrainian].
  17. Norlin M, Wikvall K. Enzymes in the conversion of cholesterol into bile acids. *Curr. Mol. Med.* 2007;7(2):199-218.
  18. Conservation of the coding regions of the glycine N-acyl-transferase gene further suggests that glycine conjugation is an essential detoxification pathway. R. van der Sluis. *Gene.* 2015;571(1):126-34.
  19. Boyer JL. Bile Formation and Secretion. *Comp. Physiol.* 2013;3(3):1035-78.
  20. Marin JJ, Macias RI, Briz O, Banales JM, Monte MJ. Bile Acids in Physiology, Pathology and Pharmacology. *Curr Drug Metab.* 2015;17(1):4-29.

*Матеріал надійшов до редакції 17.04.2017*