

## ОБМІН КУПРУМУ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ЇХ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ АЦЕТАМІНОФЕНОМ НА ТЛІ ПРОТЕЇНОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

О. М. Волощук, Г. П. Копильчук  
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, 58008, Україна

*У роботі досліджені окремі показники обміну Купруму у щурів за умов ацетамінофен-індукованого токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну.*

*Дослідження проводили на 4 групах тварин: I — інтактні тварини (К); II — щури, які отримували низькопротеїновий раціон (НПР); III — щури з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням печінки (ТУ); тваринам IV групи моделювали гостре ацетамінофен-індуковане токсичне ураження печінки на тлі аліментарної депривації протеїну (НПР+ТУ). Вміст церулоплазміну у сироватці крові визначали методом Равіна, який базується на фотометричному визначенні продуктів окиснення п-фенілендіаміну за участі церулоплазміну. Визначення концентрації Купруму у сироватці крові та сечі проводили, використовуючи набори реактивів «BIO-LA-TEST» (Чехія). Вміст альбуміну у сироватці крові оцінювали з допомогою набору реактивів «Філісіт-Діагностика» (Україна).*

*Встановлено, що у протеїн-дефіцитних тварин, порівняно з контролем, спостерігається зниження вмісту Купруму в 1,6 разу, при цьому для тварин цієї групи характерне виражене зниження вмісту церулоплазміну у крові та посилена втрата Купруму із сечею. Аналогічні зміни спостерігаються у тварин з модельованим токсичним ураженням печінки, яких утримували на повноцінному раціоні.*

*Показано, що максимально виражене порушення обміну Купруму спостерігається у протеїн-дефіцитних тварин з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням печінки. У тварин цієї групи трикратне зниження вмісту Купруму на тлі гіпоальбумінемії та двократне зниження вмісту церулоплазміну у сироватці крові супроводжується вираженою гіперкупрумурією. Виснаження пулу біологічно доступного Купруму може надалі призводити до порушення функціонування Купрум-залежних ензимів та розглядатися як один з можливих механізмів порушення метаболічних процесів за умов ацетамінофен-індукованих інтоксикацій на тлі аліментарної нестачі протеїну. Встановлені нами зміни показників обміну Купруму за умов токсичного ураження печінки та аліментарної нестачі протеїну відкривають перспективи для подальшого вивчення активностей Купрум-вмісних ензимів та їх вкладу у формування метаболічних порушень за досліджуваних умов.*

**Ключові слова:** АЦЕТАМІНОФЕН, ПЕЧІНКА, АЛІМЕНТАРНА ПРОТЕЇНОВА НЕДОСТАТНІСТЬ, КУПРУМ, ЦЕРУЛОПЛАЗМІН

## COPPER METABOLISM IN RATS UNDER TOXIC INJURY BY ACETAMINOPHEN ON THE BACKGROUND OF ALIMENTARY PROTEIN DEFICIENCY

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

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

*The indices of copper metabolism in rats with toxic liver injury on the background of alimentary protein deficiency were studied in the research.*

*The animals were separated into the following 4 groups: I — intact animals (C); II — animals receiving low-protein ration (LPR); III — animals subjected to acetaminophen-induced liver lesions receiving complete ration (H); IV — animals subjected to acetaminophen-induced liver lesions that were previously fed semi-*

synthetic low-protein ration (LPR+H). The level of ceruloplasmin in blood plasma was determined by Ravin method based on a photocolormetric evaluation of the products of n-phenylamide oxidation by ceruloplasmin. Determination of copper level in blood plasma and urea was conducted using set of reagents ("BIO-LA-TEST", Czech Republic). Albumin level in blood plasma was evaluated using set of reagents ("Filisit-Diagnostics", Ukraine).

It is established that in rats with protein deficiency there is a decrease in copper level by 1.6 times comparing to control, along with a significant reduction of ceruloplasmin plasma level as well as an increased loss of copper with urine. The similar changes are found in animals with a modeled toxic liver injury, maintained on a full-value diet.

It is established that the most significant disturbances of copper metabolism are observed in rats with protein deficiency and acetaminophen-induced liver injury. In rats of III group there is a 3-fold decrease in copper level in blood plasma on the background of hypoalbuminemia, and a 2-fold reduction of ceruloplasmin level in blood plasma accompanied by an increased copper content in urine. A depletion of pool of the biologically available copper may further lead to changes in functioning of the copper-dependent enzymes. Thus, it may be considered as a possible mechanism of disturbances of the metabolic processes in conditions of drug-induced intoxications against the background of alimentary protein deficiency.

Obtained changes in copper metabolism indices under the conditions of toxic liver injury on a background of alimentary deprivation of protein open the new prospects for the further research into the activity of copper-containing enzymes and their role in the formation of the metabolic disturbances in the given conditions.

**Keywords:** ACETAMINOPHEN, LIVER, ALIMENTARY PROTEIN DEFICIENCY, COPPER, CERULOPLASMIN

## ОБМЕН КУПРУМА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ИХ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ АЦЕТАМИНОФЕНОМ НА ФОНЕ ПРОТЕИНОВОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

О. Н. Волощук, Г. П. Копыльчук  
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, 58008, Украина

*В работе исследованы отдельные показатели обмена Купрума у крыс в условиях ацетаминофен-индуцированного токсического повреждения на фоне алиментарной недостаточности протеина.*

*Исследования проводились на 4 группах животных: I — интактные животные (К); II — крысы, получавшие низкопротеиновый рацион (НПР); III — крысы с ацетаминофен-индуцированным токсическим повреждением печени (ТУ); животным IV группы моделировали острое ацетаминофен-индуцированное токсическое повреждение печени на фоне алиментарной депривации протеина (НПР+ТУ). Содержание церулоплазмينا в сыворотке крови определяли методом Равина, базирующемся на фотометрическом определении продуктов окисления п-фенилендиамина при участии церулоплазмينا. Определение концентрации Купрума в сыворотке крови и моче проводили, используя набор реактивов «BIO-LA-TEST» (Чехия). Содержание альбумина в сыворотке крови оценивали, используя набор реактивов «Филисит-Диагностика» (Украина).*

*Установлено, что у протеин-дефицитных животных, в сравнении с контролем, наблюдается снижение содержания Купрума в 1,6 раза, при этом для животных данной группы характерно выраженное снижение содержания церулоплазмينا в крови и усиленная потеря Купрума с мочой. Аналогичные изменения наблюдаются у животных с моделированным токсическим повреждением печени, содержащиеся на полноценном рационе.*

*Показано, что максимально выраженное нарушение обмена Купрума наблюдается у протеин-дефицитных животных с ацетаминофен-индуцированным токсическим повреждением печени. У животных данной группы трехкратное снижение содержания Купрума на фоне гипоальбуминемии и двукратное снижение содержания церулоплазмينا в сыворотке крови сопровождается выраженной гиперкупрурией. Истощение пула биологически доступного Купрума может далее вызывать нарушение функционирования Купрум-зависимых ферментов и рассматриваться как один из возможных механизмов нарушения метаболических процессов в условиях медикаментозно-индуцированных интоксикаций на фоне алиментарной недостаточности протеина. Установленные нами изменения показателей обмена*

*Купрума в условиях токсического повреждения печени и алиментарной недостаточности протеина открывают перспективы для последующего изучения активностей Купрум-содержащих энзимов и их вклада в формирование метаболических нарушений при исследуемых условиях.*

**Ключевые слова:** АЦЕТАМИНОФЕН, ПЕЧЕНЬ, АЛИМЕНТАРНАЯ ПРОТЕИНОВАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ, КУПРУМ, ЦЕРУЛОПЛАЗМИН

На сьогодні питання медикаментозної гепатотоксичності залишається особливо актуальним, враховуючи тенденцію до щорічного зростання випадків реєстрації токсичних уражень печінки ліками, серед яких найчастіше зустрічаються ацетамінофен-вмісні препарати [20]. Ацетамінофен — широко застосовуваний жарознижувальний та знеболювальний препарат, безпечний у терапевтичних дозах. При передозуванні ацетамінофеном токсичне ушкодження печінки виникає через 24–48 год після прийому [12]. При цьому особливості перебігу токсичних уражень печінки за умов різної забезпеченості нутрієнтами, насамперед харчовими протеїнами, залишаються невивченими. Враховуючи роль печінки у підтриманні гомеостазу, її токсичне ураження буде супроводжуватися дисрегуляторними змінами багатьох біохімічних процесів. Відомо, що печінка відіграє ключову роль у метаболізмі Купруму, оскільки забезпечує синтез молекул Cu-транспортуючого протеїну церулоплазміну, а також депонування  $\text{Cu}^{2+}$  у складі металотіонеїнів. Окрім того, за рахунок резервів у печінці підтримується постійний рівень Купруму у крові та здійснюється постачання цим мікроелементом інших органів [16, 19]. Іони Купруму є незамінними для росту і розвитку організму тварин під час ембріонального та постнатального періодів онтогенезу, оскільки необхідні для функціонування нервової, кровотворної та імунної систем, гемостазу, ангіогенезу, формування кісткової і хрящової тканин, підтримання еластичності сполучної тканини, кератинізації та пігментації шкіри [11, 14]. На сьогодні відомо, що Купрум відіграє важливу роль в антиоксидантному захисті, процесі пероксидного окислення ліпідів та функціонуванні мітохондрій, а дефіцит мікроелемента пов'язаний з атерогенною дисліпідемією [1, 13]. Окрім порушення вищезазначених процесів, наслідком дисметаболізму Купруму може стати його посилене накопичення у печінці з подальшою інтенсифікацією запального ушкодження гепатоцитів [6].

В літературі обговорюються особливості метаболізму Купруму за умов низки захворювань печінки, зокрема за неалкогольної жирової хвороби печінки, інсулінорезистентності, хронічного гепатиту С, автоімунному гепатиті [1, 2]. Показано, що за різних моделей ураження печінки виявляються порушення обміну Купруму, вираженість яких залежить від етіології захворювання, при цьому низька біодоступність Купруму сприяє прогресуванню гепатопатологій, зокрема розвитку дисліпідемії [4]. Водночас на сьогодні відкритим залишається питання особливостей обміну Купруму за умов ацетамінофен-індукованих уражень печінки та за умов нестачі есенціальних нутрієнтів, зокрема протеїну.

Враховуючи роль печінки у метаболізмі Купруму, ймовірно, за умов її токсичного ураження може спостерігатися порушення зв'язування Купруму у печінці і подальше використання у біологічних процесах. Тому мета роботи полягала у дослідженні окремих показників обміну Купруму у щурів за умов ацетамінофен-індукованого токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну.

### Матеріали і методи

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою 100–120 г. Всі маніпуляції з тваринами проводили з дотриманням вимог Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та науковою метою (Страсбург, Франція 1986) та згідно з «Загальними принципами роботи на тваринах», затвердженими I Національним конгресом з біоетики (Київ, Україна, 2001).

Тварин розділили на 4 групи по 9 особин у кожній: I група — інтактні тварини (К); II група — щури, які перебували на напівсинтетичній низькопротеїновій дієті протягом 28 діб (НПР); III — щури з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням печінки (ТУ); тваринам

IV групи моделювали гостре ацетамінофен-індуковане токсичне ураження печінки на фоні аліментарної депривації протеїну (НПР+ТУ).

Щурів утримували по одному в стандартних пластмасових клітках, доступ до води *ad libitum*. Тварини I та III групи отримували напівсинтетичний раціон, що містив 14 % протеїну (у вигляді казеїну), 10 % жирів, 76 % вуглеводів, розрахований згідно з рекомендаціями *American Institute of Nutrition* [18]. Тварини II та IV групи отримували ізоенергетичний раціон, збалансований за всіма нутрієнтами, що містив 4,7 % протеїну, 10 % жирів та 85,3 % вуглеводів.

Після чотиритижневого утримання тварин на експериментальній дієті моделювання ацетоамінофен-індукованого ураження печінки здійснювали шляхом введення *per os* ацетоамінофену в дозі 1 г/кг маси тварин у 2 %-й крохмальній суспензії двічі через 24 год за допомогою спеціального зонда [10]. Евтаназію тварин здійснювали методом цервікальної дислокації.

Вміст церулоплазміну у сироватці крові визначали методом Равіна, який базується на фотометричному визначенні продуктів окиснення *n*-фенілендіаміну за участі церулоплазміну [8]. Визначення концентрації Купруму у сироватці крові та сечі проводили стандартним методом, використовуючи набори реактивів «BIO-LA-TEST» (Чехія). Метод базується на здатності батокупроїну утворювати з іонами одновалентної міді стійкий комплекс оранжевого кольору, який визначається фотометрично при 460 нм. Вміст альбуміну у сироватці крові оцінювали з допомогою набору 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 оцінювали з використанням стандартного *t*-критерію Стюдента.

### Результати й обговорення

Результати проведених досліджень показали, що в сироватці крові щурів, яких утримували на низькопротеїновому раціоні, спостерігається зниження вмісту Купруму в 1,6 разу

порівняно з контролем (рис. 1). Враховуючи, що після надходження Купруму в організм з їжею у базальній частині ентероцитів відбувається тимчасове зв'язування Купруму з альбуміном, який забезпечує транспорт Купруму з кров'ю ворітної вени до печінки та інших органів та тканин [2, 5], то однією з можливих причин встановленого нами зниження вмісту Купруму в сироватці крові, ймовірно, може бути виражене зниження вмісту альбуміну у крові за досліджуваних експериментальних умов (рис. 2).

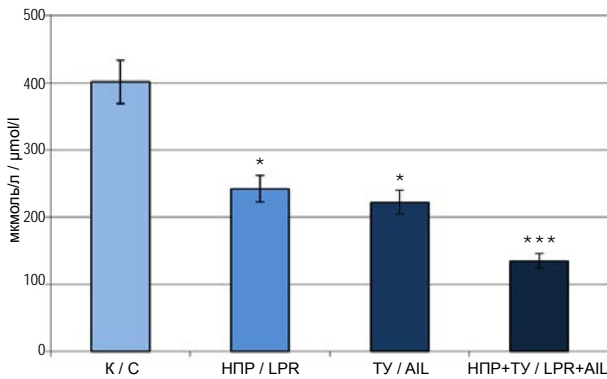
Враховуючи участь Купруму у життєво важливих метаболічних процесах — клітинному диханні, антиоксидантному захисті, абсорбції та обміні Феруму, синтезі катехоламінів та інших нейротрансмітерів, метаболізмі сульфуровмісних амінокислот, окисненні залишків лізину в молекулах еластину і колагену, проліферації клітин [7], то наслідком показаного нами виснаження пулу Купруму у крові може бути порушення цілої низки метаболічних процесів. При цьому в основі зумовлених нестачею Купруму патологічних станів, ймовірно, буде порушення функціонування *Сu*-вмісних ферментів.

На наступному етапі досліджень для оцінки особливостей метаболізму Купруму проводили визначення показників вмісту Купрум-вмісного білка церулоплазміну, оскільки зв'язування Купруму з церулоплазміном є обов'язковою передумовою для його подальшого використання іншими тканинами. Купрум, транспортований у комплексі з альбуміном до печінки, зв'язується з апоцерулоплазміном, утворюючи церулоплазмін. Церулоплазмін виконує роль транспортного білка, оскільки переносить Купрум до різних тканин та органів [3].

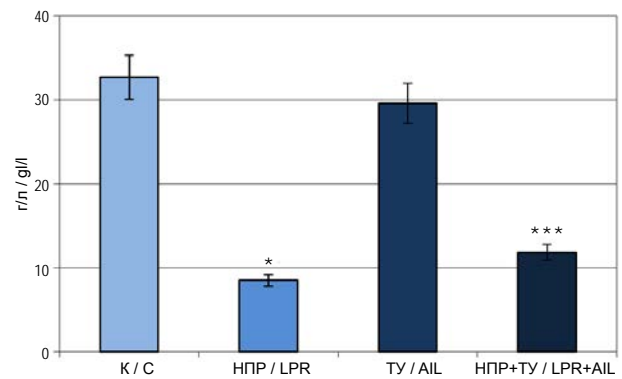
Результати проведених досліджень показали, що у протеїн-дефіцитних тварин спостерігається зниження в 1,6 разу вмісту церулоплазміну у крові (рис. 3). Встановлений нами факт, ймовірно, може бути пов'язаний як з дефіцитом у крові Купруму, необхідного для синтезу церулоплазміну, так і з порушенням синтезу протеїнової частини церулоплазміну, що може спостерігатися за умов недостатнього надходження протеїну з раціоном.

Аналогічні зміни спостерігаються у сироватці крові тварин з індукованим ацетамінофеном токсичним ураженням печінки. Результа-

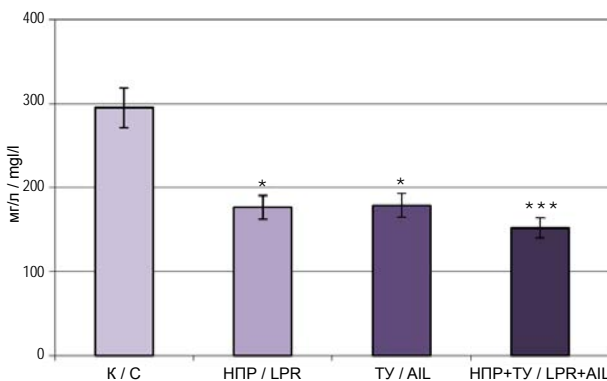




*Рис. 1.* Вміст Купруму в сироватці крові щурів з ацетамінофен-індукованим гепатитом за умов аліментарної нестачі протеїну  
*Fig. 1.* Cu in serum in rats with hepatitis induced by acetaminophen under the conditions of alimentary protein deficiency



*Рис. 2.* Вміст альбуміну в сироватці крові щурів з ацетамінофен-індукованим гепатитом за умов аліментарної нестачі протеїну  
*Fig. 2.* Albumin in serum in rats with hepatitis induced by acetaminophen under the conditions of alimentary protein deficiency



*Рис. 3.* Вміст церулоплазміну в сироватці крові щурів з ацетамінофен-індукованим гепатитом за умов аліментарної нестачі протеїну  
*Fig. 3.* Ceruloplasmin in serum in rats with hepatitis induced by acetaminophen under the conditions of alimentary protein deficiency

ти проведених досліджень показали зниження вмісту Купруму у крові в 1,7 разу (рис. 1) та церулоплазміну — в 1,5 разу (рис. 3). На сьогодні відомо, що включення Купруму в церулоплазмін вимагає попереднього зв'язування з глутатіоном і цей процес є АТФ-залежним та лімітується нестачею як глутатіону, так і АТФ [17]. З попередніх досліджень, проведених в нашій лабораторії, відомо, що в умовах надходження токсичних концентрацій ацетамінофену відбувається виснаження запасів глутатіону [9] та пулу АТФ [22], що можна розглядати як один з механізмів встановлених нами змін вмісту церулоплазміну у тварин з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням печінки.

Проте максимальне зниження показників вмісту Купруму практично в 3 рази (рис. 1)

*Примітка:* (тут і надалі) К — тварини, які отримували повноцінний напівсинтетичний раціон (контроль); НПР — тварини, які перебували на низькопротеїновому раціоні; ТУ — тварини, яким моделювали ацетамінофен-індуковане ураження печінки; НПР+ТУ — тварини, яким на тлі низькопротеїнового раціону моделювали токсичне ураження; \* —  $P \leq 0,05$  — статистично вірогідна різниця порівняно з контролем; \*\* —  $P \leq 0,05$  — статистично вірогідна різниця порівняно з тваринами з токсичним ураженням печінки, яких утримували на повноцінному раціоні.

*Note:* (here and further) C — animals receiving complete semi-synthetic ration (control); LPR — animals receiving low protein ration; AIL — animals subjected to acetaminophen-induced liver lesions; LPR+AIL — animals subjected to acetaminophen-induced liver lesions that were previously fed semi-synthetic low-protein ration; \* —  $P \leq 0,05$  — significant difference from control; \*\* —  $P \leq 0,05$  — significant difference from animals with acute acetaminophen-induced hepatitis kept on a complete diet.

на тлі зниження вмісту церулоплазміну у сироватці крові тварин майже в 2 рази (рис. 3) спостерігається у групі тварин з індукованим токсичним ураженням на тлі білкової недостатності. Враховуючи роль церулоплазміну у обміні Феруму [15], а саме участь церулоплазміну у перетворенні  $Fe^{2+}$ , який зберігається у печінці, у  $Fe^{3+}$  з подальшим його зв'язуванням з трансферином, встановлені нами зміни вмісту церулоплазміну пояснюють показане нами раніше посилене накопичення Феруму у печінці за таких експериментальних умов [21].

Окрім того, як показано, виражений дефіцит Купруму супроводжується змінами на субклітинному рівні, зокрема прискоренням процесу «старіння» мітохондрій, зменшенням вмісту мітохондріальних коферментів, підви-

щенням проникності мітохондріальної мембрани з наступним порушенням транспорту АТФ, що також можна розглядати як одну з можливих ланок формування вираженого енергодефіциту за досліджуваних експериментальних умов, що було показано нами раніше [22]. Також є дані, що дефіцит Купруму супроводжується порушенням процесів ліпідного обміну — пригніченням активності ліпопротеїнліпази та змінами в ліпідному складі плазми крові [1, 2].

Порушення здатності Купруму зв'язуватися з церулоплазміном та альбуміном, ймовірно, призводитиме до виходу іонів Купруму в позасудинний простір. Іони Купруму здатні проходити через базальні мембрани нирок в гломерулярний фільтрат і виводитися з сечею, що пояснює встановлене нами збільшення вмісту Купруму в сечі у всіх досліджуваних груп тварин, яке максимально виражене у щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної нестачі протеїну (рис. 4).

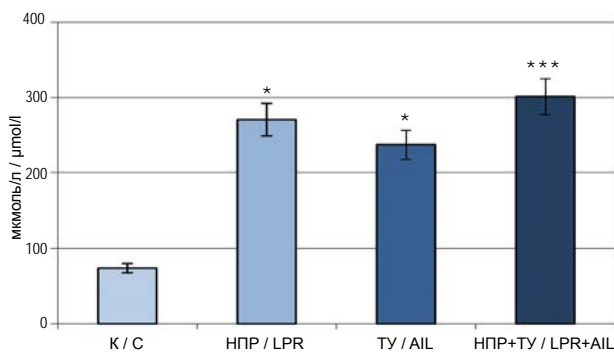


Рис. 4. Вміст Купруму в сечі щурів з ацетамінофен-індукованим гепатитом за умов аліментарної нестачі білка  
Fig. 4. Cu in urine in rats with hepatitis induced by acetaminophen under the conditions of alimentary protein deficiency

Отже, аліментарна протеїнова недостатність може розглядатися як фактор, що поглиблює порушення обміну Купруму у щурів з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням печінки, оскільки у тварин цієї групи спостерігається максимальне зниження вмісту Купруму та церулоплазміну у сироватці крові щурів при вираженій втраті Купруму з сечею.

## Висновки

Встановлено, що максимально виражені зміни окремих показників обміну Купруму

спостерігаються у протеїн-дефіцитних тварин з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням печінки. У тварин цієї групи трикратне зниження вмісту Купруму на тлі гіпоальбумінемії та двократне зниження вмісту церулоплазміну у сироватці крові супроводжується вираженою гіперкупрумурією. Виснаження пулу біологічно доступного Купруму, ймовірно, може надалі призводити до порушення функціонування Купрум-залежних ензимів, тому це питання потребує подальшого вивчення. Встановлені зміни можуть розглядатися як один з можливих механізмів порушення метаболічних процесів за умов ацетамінофен-індукованих інтоксикацій на тлі аліментарної нестачі протеїну.

## Перспективи подальших досліджень.

Встановлені нами зміни окремих показників обміну Купруму за умов токсичного ураження печінки та аліментарної нестачі протеїну відкривають перспективи для подальшого біохімічного обґрунтування терапевтичних підходів до усунення і корекції наслідків ацетамінофен-індукованого токсичного ураження печінки.

1. Aigner E., Strasser M., Haufe H., Sonnweber T., Hohla F., Stadlmayr A., Solioz M., Tilg H., Patsch W., Weiss G., Stickel F., Datz C. A Role for Low Hepatic Copper Concentrations in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *The American Journal of Gastroenterology*, 2010, vol. 105, pp. 1978–1985. DOI: 10.1038/ajg.2010.170.

2. Aigner E., Theur I., Haufe H., Seifert M., Hohla F., Scharinger L., Stickel F., Murlane F., Weiss G., Datz C. Copper availability contributes to iron perturbations in human nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterology*, 2008, vol. 135, issue 2, pp. 680–688. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.007.

3. Aliasgharpour M. A review on copper, ceruloplasmin and wilson's disease. *International journal of Medical Investigation*, 2015, vol. 4, no. 4, pp. 344–347.

4. Dongiovanni P., Valent L. A Nutrigenomic Approach to Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, vol. 18, issue 7, p. 1534. DOI: 10.3390/ijms18071534.

5. Fieten H., Leegwater P. A., Watson A. L., Rothuizen J. Canine models of copper toxicosis for understanding mammalian copper metabolism. *Mammalian Genome*, 2012, vol. 23, issue 1–2, pp. 62–75. DOI: 10.1007/s00335-011-9378-7.

6. Hatano R., Ebara M., Fukuda H., Yoshikawa M., Sugiura N., Kondo F., Yukawa M., Saisho H. Accumulation of copper in the liver and hepatic injury in chronic hepatitis C. *J. Gastroenterology and Hepatology*, 2000,

vol. 15, issue 7, pp. 786–791. DOI: 10.1046/j.1440-1746.2000.02199.x.

7. Itoh S., Kim H. W., Nakagawa O., Ozumi K., Lessner S. M., Aoki H., Akram K., McKinney R. D., Ushio-Fukai M., Fukai T. Novel role of antioxidant-1 (Atox1) as a copper-dependent transcription factor involved in cell proliferation. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, vol. 283, no. 14, pp. 9157–9168. DOI: 10.1074/jbc.M709463200.

8. Kolb V. G., Kamishnikov V. S. Determination of ceruloplasmin in serum by modified method of Ravina. In: *Practical book in clinical chemistry*. 2<sup>nd</sup> ed. Belarus, 1982, pp. 290–291. (in Russian)

9. Kopylchuk G. P., Buchkovska I. M., Borschovetska N. L., Chopyk N. V. The activity of glutathione synthesis and conjugation enzymes in rat hepatocytes under conditions of low-protein diet and acute liver injury. *Biological systems*, 2014, vol. 6, no. 1, pp. 10–15. (in Ukrainian)

10. Kopylchuk G. P., Voloshchuk O. M., Balandyuk O. V. Biochemical markers of the functional liver state in rats with toxic hepatitis under the conditions of germanium citrate administration. *The Animal Biology*, 2017, vol. 19, issue 1, pp. 59–64. DOI: 10.15407/animbiol19.01.059. (in Ukrainian)

11. Kumaratilake J. S. Chronic Copper Poisoning in Sheep: Liver Injury. *Journal of Trace Element Analysis*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 1–22. DOI: 10.7726/jtea.2014.1001.

12. Lin G., Luo D., Liu J., Wu X., Chen J., Huang Q., Su L., Zeng L., Wang H., Su Z. Hepatoprotective Effect of Polysaccharides Isolated from *Dendrobium officinale* against Acetaminophen-Induced Liver Injury in Mice via Regulation of the Nrf2-Keap1 Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2018, vol. 2018, pp. 1–10. DOI: 10.1155/2018/6962439.

13. Linder M. C., Hazegh-Azam M. Copper biochemistry and molecular biology. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1996, vol. 63, no. 5, pp. 797S–811S. DOI: 10.1093/ajcn/63.5.797.

14. Lyman D. R., Clark L. J., Campbell K. L. Copper Accumulation in Wisconsin Holsteins with Indica-

tions of Oxidative Liver Damage. *Journal of Veterinary Medicine and Research*, 2015, vol. 2, no. 2, p. 1021.

15. Manto M. Abnormal Copper Homeostasis: Mechanisms and Roles in Neurodegeneration. *Toxics*, 2014, vol. 2, issue 2, pp. 327–345. DOI: 10.3390/toxics2020327.

16. Mounajjed T., Oxentenko A. S., Qureshi H., Smyrk T. C. Revisiting the Topic of Histochemically Detectable Copper in Various Liver Diseases With Special Focus on Venous Outflow Impairment. *American Journal of Clinical Pathology*, 2013, vol. 139, issue 1, pp. 79–86. DOI: 10.1309/AJCPDZR4OHDQNG3L.

17. Musci G., Di Marco S., Bellenchi G. C., Calabrese L. Reconstitution of Ceruloplasmin by the Cu(I)-Glutathione Complex. Evidence for a role of Mg<sup>2+</sup> and ATP *The Journal of Biological Chemistry*, 1996, vol. 271, issue 4, pp. 1972–1978. DOI: 10.1074/jbc.271.4.1972.

18. Reeves P. G., Nielsen F. H., Fahey G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. *The Journal of Nutrition*, 1993, vol. 123, issue 11, pp. 1939–1951. DOI: 10.1093/jn/123.11.1939.

19. Roberts E. A., Sarkar B. Liver as a key organ in the supply, storage, and excretion of copper. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2008, vol. 88, issue 3, pp. 851S–854S. DOI: 10.1093/ajcn/88.3.851S.

20. Somanawat K., Thong-Ngam D., Klaikeaw N. Curcum-in attenuated paracetamol overdose induced hepatitis. *World J. Gastroenterol.*, 2013, vol. 19, issue 12, pp. 1962–1967. DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1962.

21. Voloshchuk O. N., Kopylchuk G. P. An assessment of the ferrokinetic indices in rats with toxic hepatitis under the conditions of alimentary deprivation of protein. *Experimental & clinical gastroenterology*, 2016, vol. 10, no. 134, pp. 54–57. (in Russian)

22. Voloshchuk O. N., Kopylchuk G. P. The State of the Adenyl Nucleotide System in the Liver of Rats with Toxic Hepatitis under Conditions of Protein Deficiency. *Biophysics*, 2017, vol. 62, issue 6, pp. 980–983. DOI: 10.1134/S0006350917060252.