

УДК 616.127+616.36+616-092.9+616.441-008.64

АНАЛІЗ ПОКАЗНИКІВ NO-СИНТАЗНОЇ СИСТЕМИ МІОКАРДА ТА ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ІЗ ГІПОТИРЕОЇДНОЮ ДИСФУНКЦІЄЮ

Николишин Л.В., Воронич-Семченко Н.М., Гуранич Т.В., Сторожук Н.С., Семченко В.А.

ДВНЗ “Івано-Франківський національний медичний університет”, м. Івано-Франківськ, Україна, fisiology@ifnmu.edu.ua

Резюме. У статті проаналізовано показники тиреоїдного статусу, NO-синтазної системи, вміст селену в еритроцитах, щитоподібній залозі, міокарді та печінці щурів із йодною депривацією та на тлі комбінованого дефіциту йоду й селену. Виявлено, що при додатковому обмеженні поступлення до організму селену у тварин із гіпотиреоїдною дисфункцією на тлі йодної депривації розвиваються більш виражені зміни тиреоїдного статусу. Розвиток гіпотиреоїдної дисфункції супроводжується пригніченням NO-синтазної системи у міокарді та печінці. Зокрема, активність NOS у міокарді щурів із комбінованим дефіцитом мікроелементів знизилась на 52,6 % ($p_{1-2}<0,05$), iNOS - на 61,1 % ($p_{1-2}<0,05$) та cNOS - на 43,2 % ($p_{1-2}<0,05$) щодо аналогічних показників у тварин із монодефіцитом йоду. Аналогічна тенденція спостерігалась у печінці: активність NOS знизилась на 30,7% ($p_{1-2}<0,05$), iNOS - на 26,3% ($p_{1-2}<0,05$) та cNOS - 42,3% ($p_{1-2}<0,05$) щодо даних за умов йододефіциту. Виявлені зміни NO-синтазної системи можуть виступати однією із метаболічних ланок патогенезу коморбідної патології з боку серцево-судинної та гепато-біліарної систем на тлі порушення тиреоїдного гомеостазу.

Ключові слова: гіпотиреоїдна дисфункція, йодна депривація, дефіцит селену, NO-синтазна система, серцево-судинна система, гепато-біліарна система.

Вступ. Вивчення механізмів розвитку тиреоїдної патології залишається актуальною проблемою фізіології ендокринної системи. Крім недостатнього надходження до організму йоду, зумовлювати зниження функціональної спроможності щитоподібної залози може порушення транспорту та органіфікації йодидів, вплив інших струмогенних геохімічних чинників, забруднення довкілля радіонуклідами, медикаментозні навантаження на організм, недостатність інших есенційних елементів, зокрема, селену [1-3]. Як кофактор він входить до складу ферментів йодтиронін-5-дейодинази (каталізує відщеплення йоду від тироксину - T_4

та утворення трийодтироніну - T_3), глутатіонпероксидази - ГП (забезпечує захист ненасичених жирних кислот фосфоліпідів мембран клітин від дії токсичних продуктів ліпопероксидації та виведення вільних радикалів із організму, стабілізує генетичний апарат клітин). Зв'язаний з клітинами ендотелію судин селенопротеїн SePP виявляє антиоксидантні властивості, інгібуючи утворення пероксинітриду. Інші селенопротеїни (cGPr, PHGPr, TxR_{1,3}) беруть участь в антиоксидантному захисті та регуляції передачі внутрішньоклітинних сигналів [4, 5]. Комбінований дефіцит йоду та селену може потенціювати негативний вплив на організм кожного із мікроелементів, зокрема, супроводжуватись вираженими змінами тиреоїдного гомеостазу. Представляє інтерес з'ясування змін у системі оксиду азоту, який є важливим модулятором життєво важливих функцій організму. Відомо, що нітрит-іон виявляє гепатопротекторну дію, володіє антиоксидантними та протизапальними властивостями, є потужним вазодилататором, регулює функціональну активність багатьох рецепторів, вивільнення нейротрансмітерів і передачу нервового збудження, впливає на реакції фагоцитозу [6, 7]. У той же час зміни показників NO-синтазної системи за умов тиреоїдної патології доволі суперечливі.

Актуальність дослідження зумовлена зростанням захворювань щитоподібної залози незалежно від регіону зобної ендемії, високою ймовірністю формування комбінованого дефіциту мікроелементів, що може потенціювати патогенез гіпотиреозу та розвиток коморбідної патології [8-12].

Мета дослідження. Вивчення показників NO-синтазної системи міокарда та печінки щурів із гіпотиреоїдною дисфункцією (ГД) за умов мікроелементного дисбалансу.

Об'єкт і методи дослідження. Дослідження проводили на 60 статевозрілих щурах-самцях масою 150-180 г. Тварини були розділені на дві дослідні групи: 1-ша (ГД_I, n=30) - щури із ГД на тлі дефіциту йоду, 2-га (ГД_{I+Se},

n=30) - щури із ГД за умов комбінованого дефіциту йоду та селену. ГД моделювали шляхом утримання тварин на йододефіцитній дієті [13]. Дефіцит селену відтворювали залученням до базової дієти збалансованого селенодефіцитного раціону із натуральних інгредієнтів [14]. Для порівняння аналогічні показники визначали у 30 інтактних тварин (контрольна група), яких утримували в умовах стандартного харчового раціону, звичайного температурного та світлового режиму віварію.

Евтаназію здійснювали шляхом декапітації під кетаміновим знечуленням (100 мг/кг маси тіла). Утримання, вигодовування та евтаназія відповідали чинним міжнародним вимогам щодо гуманного відношення до тварин і загальноприйнятими національними нормами біоетики (Страсбург, 1986; Київ, 2001).

Тиреоїдний статус тварин оцінювали за вмістом у сироватці крові тиреоїдних гормонів (вільних трийодтироніну - fT_3 та тироксину - fT_4 , тиреотропного гормону аденогіпофіза - ТТГ), йоду в сечі. Вміст селену визначали в еритроцитах, тканинах щитоподібної залози, міокарда та печінки. Систему оксиду азоту характеризували за активністю NO-синтаз: загальної (NOS), конститутивної (cNOS) та індукцибельної (iNOS) у міокарді та печінці.

Статистичний аналіз виконували з використанням сучасних комп'ютерних програм (Statistic Soft 7,0). Для кожної з вибірок перевіряли чи є нормальним розподіл досліджуваного показника, застосовуючи критерій Шапіро-Вілка. За цим критерієм визначали чи розподіл даних вибірок відповідає розподілу Гауса. У випадку двох нормальних розподілів перевіряли рівність генеральних дисперсій, застосовуючи критерій Левена, після чого порівнювали вибірки за допомогою t-критерію Стьюдента. Статистично значущою вважали різницю при $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. У результаті проведеного дослідження встановлено зменшення вмісту тиреоїдних гормонів у сироватці крові щурів 1-ї дослідної групи: fT_3 - на 64,8% ($p < 0,001$), fT_4 - 36,4% ($p < 0,05$) щодо контролю (табл. 1).

Додаткове обмеження поступлення до організму селену у тварин із ГД на тлі йодної депривації супроводжувалось більш вираженими змінами показників тиреоїдного статусу, про що свідчить суттєве збільшення вмісту ТТГ (у 2,4 раза, $p < 0,01$), зменшення вмісту fT_3 (на 74,4%, $p < 0,001$), fT_4 (на 54,63%, $p < 0,05$) у сироватці крові та зниження індекса fT_3/fT_4 на 43,5% ($p < 0,05$) щодо аналогічних показників у тварин контрольної групи (табл. 1).

Таблиця 1

Показники тиреоїдної системи щурів із гіпотиреоїдною дисфункцією за умов йододефіциту, комбінованого дефіциту йоду та селену (M±m)

Дослідні групи	Вільний трийодтиронін (fT_3), пмоль/л	Вільний тироксин (fT_4), пмоль/л	Тиреотропний гормон (ТТГ), мМО/л	fT_3/fT_4	Йод в сечі, мкг/л
Інтактні тварини (n=30)	8,81±0,71	32,69±8,65	0,14±0,02	0,23±0,04	100,30±8,10
1-ша дослідна група (ГД _I , n=30)	3,10±0,16*	20,77±2,96	0,18±0,04	0,16±0,07	15,0±0,04*
2-га дослідна група (ГД _{I+Se} , n=30)	2,26±0,21* $p_{1-2} < 0,02$	14,83±1,48#	0,33±0,05** $p_{1-2} < 0,02$	0,13±0,03#	10,80±0,03*

Примітка. Тут і в наступних таблицях * - $p < 0,001$, ** - $p < 0,01$; # - $p < 0,05$ щодо аналогічних показників у контрольній групі тварин; p із арабськими цифрами – достовірна різниця між показниками у тварин дослідних груп

При цьому встановлено достовірне зменшення вмісту fT_3 на 27,1%, ($p_{1-2} < 0,02$) та зростання рівня ТТГ на 83,3% ($p_{1-2} < 0,02$) у сироватці крові щурів цієї групи щодо аналогічних показників у тварин 1-ї дослідної групи. За таких умов у сечі щурів 1-ї та 2-ї дослідних груп спостерігали різке зменшення вмісту йоду в порівнянні з інтактними тваринами (табл. 1).

У тварин із ГД виявили зміни вмісту селену у досліджуваних тканинах. Зокрема, у 1-й дослідній групі тварин спостерігали наступний перерозподіл вмісту селену: зменшення в еритроцитах (на 27,2%, $p < 0,01$), міокарді (на 55,5%, $p < 0,001$) та щитоподібній залозі (на 27,9%, $p < 0,01$) на тлі зростання у печінці (на 18,2%, $p < 0,05$) щодо аналогічних показників у інтактних тварин (табл. 2). У тварин 2-ї дослідної групи аналогічні показники були на 70,9-89,0% ($p < 0,05$) меншими, ніж у щурів контрольної групи. При цьому вміст селену у досліджуваних тканинах тварин із комбінованим дефіцитом мікроелементів достовірно знизився щодо даних у щурів, яких утримували в умовах монодефіциту йоду: у еритроцитах - на 67,6% ($p_{1-2} < 0,001$), міокарді - на 34,5% ($p_{1-2} < 0,02$), печінці - на 91,0% ($p_{1-2} < 0,001$) та щитоподібній залозі - на 87,8% ($p_{1-2} < 0,001$).

Таблиця 2
Вміст селену в еритроцитах, тканині щитоподібної залози, міокарда та печінки щурів із гіпотиреодною дисфункцією за умов йододефіциту, комбінованого дефіциту йоду та селену (M±m)

Дослідні групи	Селен, мкг/л гомогенату			
	еритроцити	міокард	печінка	щитоподібна залоза
Інтактні тварини (n=30)	115,98±8,50	114,11±7,56	86,72±4,50	118,81±5,44
1-ша дослідна група (ГД, n=30)	84,41±4,09**	50,74±3,11*	102,51±4,61 [#]	85,67±4,42**
2-га дослідна група (ГД+се, n=30)	27,33±3,61* p ₁₋₂ <0,001	33,22±5,16* p ₁₋₂ <0,02	9,22±2,30* p ₁₋₂ <0,001	10,44±1,15* p ₁₋₂ <0,001

Показники активності NO-синтазної системи представлено в таблиці 3. При аналізі даних у тварин 1-ї дослідної групи виявили пригнічення активності NO-синтаз у досліджуваних тканинах, а саме: у міокарді активність NOS зменшилась на 61,8% (p<0,001), iNOS - на 33,4% (p<0,01); у гомогенаті печінки спостерігали зниження активності NOS на 60,1% (p<0,001), iNOS - на 47,1% (p<0,01) щодо аналогічних даних у тварин контрольної групи.

Таблиця 3
Зміни показників NO-синтазної системи у тканинах міокарда та печінки щурів із гіпотиреодною дисфункцією за умов йододефіциту, комбінованого дефіциту йоду та селену (M±m)

Дослідні групи	Міокард			Печінка		
	NOS, нмоль/хв·мг	iNOS, нмоль/хв·мг	cNOS, нмоль/хв·мг	NOS, нмоль/хв·мг	iNOS, нмоль/хв·мг	cNOS, нмоль/хв·мг
Інтактні тварини (n=30)	18,77±0,66	9,26±0,55	3,47±0,29	8,00±0,87	3,59±0,34	3,09±0,26
1-ша дослідна група (ГД, n=30)	7,18±0,49*	6,17±0,55**	3,54±0,38	3,19±0,40*	1,90±0,19**	2,01±0,24
2-га дослідна група (ГД+се, n=30)	3,40±0,24* p ₁₋₂ <0,001	2,41±0,19* p ₁₋₂ <0,001	2,01±0,19** p ₁₋₂ <0,01	2,21±0,13* p ₁₋₂ <0,05	1,40±0,13* p ₁₋₂ <0,05	1,16±0,20* p ₁₋₂ <0,05

При цьому зміни cNOS у гомогенатах серця та печінки не були достовірними щодо контролю. У щурів 2-ї дослідної групи встановлена аналогічна тенденція змін досліджуваних показників. Зокрема, у міокарді

виявили зниження NOS на 81,9% (p<0,001), iNOS - на 73,9% (p<0,001) та cNOS - на 42,1% (p<0,01). У печінці також встановлено зниження активності NOS (на 62,4%, p<0,001), iNOS (на 61,0%, p<0,001) та cNOS (на 62,5%, p<0,01) щодо контролю. При порівняльному аналізі даних NO-синтазної системи у міокарді щурів із мікроелементозом активність NOS зменшилась на 52,6% (p₁₋₂<0,001), iNOS - на 61,0% (p₁₋₂<0,001) та cNOS - на 43,2% (p₁₋₂<0,01); у тканині печінки активність NOS знизилась на 30,7% (p₁₋₂<0,05), iNOS - на 26,3% (p₁₋₂<0,05), cNOS - на 42,3% (p₁₋₂<0,05) щодо даних у тварин 1-ї дослідної групи. Відомо, що зниження активності cNOS зумовлює збільшення ендogenous дефіциту нітрит-іону та виступає одним із ключових ланок патогенезу ішемічної хвороби серця та цереброваскулярної патології. У той же час відносна інертність iNOS, особливо у печінці, спростовує розвиток змін запального характеру у цих органах, адже iNOS синтезується медіаторами запалення і є потужним модулятором його прогресування [6, 15].

Висновки. 1. Розвиток ГД супроводжується змінами метаболізму оксиду азоту в окремих органах та системах, що носить більше виражений характер у тварин за умов комбінованого дефіциту мікроелементів (йоду та селену).

2. Виявлені зміни NO-синтазної системи можуть виступати однією із метаболічних ланок патогенезу коморбідної патології з боку серцево-судинної та гепато-біліарної систем на тлі порушення тиреоїдного гомеостазу.

Література:

1. Большова О.В. Урожденный гипотиреоз. Этиопатогенез, клиника, диагностика, лечение / О.В. Большова, О.Я. Самсон, В.А. Музь // *Эндокринология.* – 2010. – № 2. – С.261–278.
2. Корзун В.Н. Роль микроэлементов в этиологии йододефицитных заболеваний / В.Н. Корзун, Ю.С. Котикович, Л.Ю. Антонюк // *Проблемы харчування.* – 2011. – №3–4. – С.29–35.
3. Караченцев Ю.И. Обеспеченность селеном отдельных регионов Сумской области и особенности частоты патологии щитовидной железы / Ю.И. Караченцев, О.А. Гончарова, Е.А. Подорога // *Міжнародний ендокринологічний журнал.* – 2013. – №5. – С.17–20.
4. Schomburg L. Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease / L. Schomburg // *Nat.Rev.Endocrinol.* – 2011. – Vol.8(3). – P.160–171.
5. Glatte E. Selenium and cancer prevention observations and complexity / E.Glatte, J.F.

Nygerd, J. Aaseth // J. Trace Elem. Med. Biol.– 2012.– Vol.26(2-3).– P.168–169.

6. Єфремова У.П. Роль NO-синтазної системи в організмі людини при розвитку патологічних процесів / Єфремова У.П., Личковська Н.Е., Фафула Р.В., Воробець З.Д. // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія.- 2012.- №1.-С.68-73.

7. Функціонування NO-сигнальної системи в лімфоцитах крові жінок у нормі та при неопластичній трансформації яєчника / О. І. Якубець, Д. З. Воробець, З. Д. Воробець, М. Р. Гжегоцький // Експерим. та клініч. фізіологія і біохімія. - 2014. - № 4. - С. 56-63.

8. Герцев В.М. Роль селену у розвитку цереброваскулярних та кардіоваскулярних захворювань / В.М. Герцев, О.М. Макаренко, О.М. Стоянов // Міжнародний неврологічний журнал.– 2013.– №6.– С.134–141.

9. Дербенева С.А. Влияния диетотерапии, обогащенной селеном, на психоэмоциональное состояние и адаптационный потенциал больных с сердечно-сосудистыми заболеваниями и ожирением / С.А. Дербенева, А.Р. Богданов, А.В. Похожева // Вопросы питания.– 2012.– Т.81, №4.– С.35–41.

10. Приступок О.М. Гіпотиреоз: ушкодження органів та систем / О.М. Приступок // Міжнародний ендокринологічний журнал.– 2011.– №4.– С.104–109.

11. Сидорова Н.Н. Влияние дисфункции щитовидной железы на течение ишемической болезни сердца: долгий путь от медицинского фольклора к доказательной медицине // Український медичний вісник / Therapia.– 2012.–12.– С.29–35.

12. Степанов Ю.М. Селен и заболевания печени / Ю.М. Степанов, В.В. Белицкий, С.В. Косинская // Сучасна гастроентерологія.– 2012.– №4.– С.90–100.

13. Martinez-Galan J.R. Early effect of iodine deficiency on radial glial cells of the hippocampus of the rat fetus / J. R. Martinez-Galan, P. Pedraza, M. Santacana // J. Clin. Invest. - 1997. - Vol. 99. - P. 2701-2709.

14. Барышева Е.С. Роль микроэлементов в функциональном и структурном гомеостазе щитовидной железы / Е.С. Барышева // Міжнародний ендокринологічний журнал.– 2010.– №7.– С.15–25.

15. Т.Д. Щербань Активність NO-синтаз і агрегація нейтрофілів у хворих на діабетичну нефропатію / Експериментальна і клінічна медицина. – 2011. - №3(52).- С.96-99.

УДК 616.127+616.36+616-092.9+616.441-008.64

АНАЛИЗ ПОКАЗАТЕЛЕЙ NO-СИНТАЗНОЙ СИСТЕМЫ МИОКАРДА И ПЕЧЕНИ КРЫС С ГИПОТИРЕОИДНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ

Николишин Л.В., Воронич-Семченко Н.Н., Гуранич Т.В., Сторожук Н.С., Семченко В.А.

ГВУЗ "Ивано-Франковский национальный медицинский университет", г. Ивано-Франковск, Украина, fisiology@ifnmu.edu.ua

Резюме. В статье проанализированы показатели тиреоидного статуса, NO-синтазной системы, содержание селена в эритроцитах, щитовидной железе, миокарде и печени крыс с йодной депривацией и на фоне комбинированного дефицита йода и селена. Обнаружено, что при дополнительном ограничении поступления в организм селена у животных с гипотиреоидной дисфункцией на фоне йодной депривации развиваются более выраженные изменения тиреоидного статуса. Развитие гипотиреоидной дисфункции сопровождается угнетением NO-синтазной системы в миокарде и печени. В частности, активность NOS в миокарде крыс с комбинированным дефицитом микроэлементов снизилась на 52,6% ($p_{1-2}<0,05$), iNOS - на 61,1% ($p_{1-2}<0,05$) и cNOS - на 43,2% ($p_{1-2}<0,05$) относительно аналогичных показателей у животных с монодефицитом йода. Аналогичная тенденция наблюдалась в печени: активность NOS снизилась на 30,7% ($p_{1-2}<0,05$), iNOS - на 26,3% ($p_{1-2}<0,05$) и cNOS - 42,3% ($p_{1-2}<0,05$) относительно данных в условиях йододефицита. Выявленные изменения NO-синтазной системы могут выступать одним из метаболических звеньев патогенеза коморбидной патологии со стороны сердечно-сосудистой и гепатобилиарной систем на фоне нарушения тиреоидного гомеостаза.

Ключевые слова: гипотиреоидная дисфункция, йодная депривация, дефицит селена, NO-синтазная система, сердечно-сосудистая система, гепатобилиарная система.

UDC 616.127+616.36+616-092.9+616.441-008.64

ANALYSIS OF INDEXES OF NO-SYNTASE SYSTEM OF MYOCARDIUM AND LIVER OF RATS WITH HYPOTHYROID DYSFUNCTION

L.V. Nykolyshyn, N.M. Voronych-Semchenko, T.V. Guranych, N.S. Storozhuk, V.A. Semchenko

*SHEI «Ivano-Frankivsk National Medical University», Ivano-Frankivsk, Ukraine
fisiology@ifnmu.edu.ua*

Abstract. The reduced functional capacity of the thyroid gland (TG) may be the result of violation of iodide transport and organification, the influence of goiter geochemical factors, environmental contamination with radionuclides, drugs load on the body, the deficiency of essential elements, in particular, selenium. It is interesting to find out the changes in the nitric oxide system in the conditions of microelement imbalance, which is an important modulator of vital functions of the organism. The purpose of the study – to examine the parameters of the NO-synthase system of the myocardium and liver of rats with hypothyroid dysfunction (HD) under conditions of microelement imbalance. The studies were carried out on 60 sexually mature male rats weighing 150-180 g, which were divided into two research groups: 1st (HD_I, n=30) - rats with HD on the background of iodine deficiency, 2nd (HD_{I+Se}, n=30) - rats with HD on the background of combined iodine and selenium deficiency. HD was modelled by keeping animals on an iodine-deficient diet. The deficiency of selenium was reproduced by the involvement to a based diet a balanced selenium-deficient ration from the natural ingredients. For comparison, the analogical indexes were determined in 30 intact animals (control group).

The thyroid status of animals was evaluated by the content of thyroid hormones (free triiodothyronine - fT₃ and thyroxine - fT₄, thyroid stimulating hormone of adenohypophysis - TSH) in blood serum, iodine in urine. The content of selenium was determined in erythrocytes, thyroid, myocardial and liver tissues. The nitric oxide system was characterized by the activity of NO-synthases: total (NOS), constitutive (cNOS), and inducible (iNOS) in the myocardium and the liver.

As a result of the study, a decrease of the thyroid hormones content in the blood serum of rats of the 1st research group was found: fT₃ – by 64.8% (p <0.001), fT₄ – by 36.4% (p <0.05) as to control. The additional limitation of the selenium admission into the organism of animals with HD on the background of iodine deprivation was accompanied by more pronounced changes of thyroid status indexes. In animals with HD the changes in selenium content in investigated tissues were observed: reduction in erythrocytes, myocardium and TG on the background of increase in the liver for the analogical indexes in intact animals.

The inhibition of the activity of NO-synthases in the investigated tissues was established: in the myocardium the activity of NOS decreased by 61.8% (p<0.001), iNOS - by 33.4% (p<0.01); in the liver homogenate a decrease of NOS activity by 60.1% (p <0.001), iNOS - by 47.1% (p <0.01) was observed in comparison with similar data in animals of the control group. In the rats of the 2nd research group, a similar tendency of changes in the studied indices was established. In particular, in the myocardium a decrease of NOS by 81.9% (p<0.001), iNOS by 73.9% (p<0.001) and cNOS by 42.1% (p<0.01) was found. In the liver a decrease of the activity of NOS (by 62.4%, p<0.001), iNOS (by 61.0%, p<0.001) and cNOS (by 62.5%, p<0.01) was also established as to control. During the comparative analysis of the data of the NO-synthase system in the myocardium of rats with microelementosis, the activity of NOS decreased by 52.6% (p₁₋₂<0.001), iNOS by 61.0% (p₁₋₂<0.001) and cNOS by 43.2 % (p₁₋₂<0.01); in the liver tissue the activity of NOS decreased by 30.7% (p₁₋₂<0.05), iNOS by 26.3% (p₁₋₂<0.05), cNOS by 42.3% (p₁₋₂< 0.05) as to the data of animals from the 1st research group.

Conclusions. The development of HD is accompanied by the changes of nitrogen oxide metabolism in particular organs and systems, that has more pronounced character in animals with combined deficiency of microelements (iodine and selenium). The detected changes in the NO-synthase system can act as one of the metabolic links in the pathogenesis of comorbid pathology from the side of cardiovascular and hepato-biliary systems on the background of a violation of thyroid homeostasis.

Key words: hypothyroid dysfunction, iodine deprivation, selenium deficiency, NO-synthase system, cardiovascular system, hepato-biliary system.

Стаття надійшла до редакції 02.10.2017 р.