

Динаміка вмісту білкових фракцій плазми крові щурів із токсичним ураженням після часткової гепатектомії

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, 400 А групи
спеціальності 091 Біологія

Дудчак Анастасія Романівна

Керівник:

кандидат біологічних наук,
асистент **Николайчук І.М.**

Анотація

Бакалаврська робота присвячена дослідженню динаміки вмісту білкових фракцій плазми крові щурів із токсичним ураженням після часткової гепатектомії. У роботі здійснено оцінку кількісного співвідношення альбумінів, альфа1-, альфа2-, бета- та гамма-глобулінів у плазмі крові щурів за умов токсичного ураження та резекції печінки.

Встановлено, що в контрольних щурів, яким здійснювали часткову гепатектомію, зниження альбуміну в плазмі крові відбувається на ранніх етапах регенерації – у фазу праймінгу (24 год) та проліферації (48 год), тоді як у групі щурів із токсичним ураженням ацетамінофеном виражена гіпоальбумінемія спостерігається впродовж всього експерименту.

У здорових тварин після резекції печінки диспротеїнемія відбувається за рахунок підвищення фракцій α 1-, α 2-, γ -глобулінів з одночасним зниженням фракції β -глобулінів переважно на ранніх стадіях регенерації. Регенераційний період у щурів із токсичним ураженням ацетамінофеном після ЧГ на ранніх стадіях (24 та 48 год) характеризується зниженням рівня α 1- та β -глобулінів з одночасним підвищенням вмісту α 2- та γ -глобулінової фракції, тоді як на завершальних етапах – зростанням вмісту альфа1-глобулінів та зниженням бета-глобулінів.

Ключові слова: білки плазми крові, альбуміни, глобуліни, регенерація, печінка, ацетамінофен.

Annotation

The bachelor thesis is dedicated to studying the dynamics of plasma protein fractions in rats with toxic injury after partial hepatectomy. The study assesses the quantitative ratio of albumins, α_1 -, α_2 -, β -, and γ -globulins in the blood plasma of rats under conditions of toxic injury and liver resection.

It was established that in control rats subjected to partial hepatectomy, a decrease in plasma albumin occurs at the early stages of regeneration – during the priming phase (24 hours) and proliferation phase (48 hours), whereas in the group of rats with acetaminophen-induced toxic injury, pronounced hypoalbuminemia is observed throughout the experiment.

In healthy animals after liver resection, dysproteinemia occurs due to an increase in the fractions of α_1 -, α_2 -, and γ -globulins with a simultaneous decrease in the β -globulin fraction, predominantly at the early stages of regeneration. The regeneration period in rats with acetaminophen-induced toxic injury after partial hepatectomy at the early stages (24 and 48 hours) is characterized by a decrease in the levels of α_1 - and β -globulins with a simultaneous increase in the α_2 - and γ -globulin fractions, while at the final stages, there is an increase in α_1 -globulins and a decrease in β -globulins.

Keywords: plasma proteins, albumins, globulins, regeneration, liver, acetaminophen.

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

_____ **А.Р. Дудчак**
(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Біохімічні механізми регенерації печінки	7
1.2. Моделі для регенерації печінки	8
1.3. Основні стадії процесу регенерації печінки	11
1.4. Білки плазми крові та їх біохімічна роль	12
1.4.1. Альбумін та його функції	13
1.4.2. Глобуліни та їх біологічне значення	14
1.5. Клініко-діагностичне значення білків плазми крові	15
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	19
2.1. Об'єкти та методи досліджень	19
2.2. Метод отримання плазми крові	20
2.3. Визначення вмісту білкових фракцій	21
2. 4 Статистичний аналіз результатів	22
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	23
ВИСНОВКИ	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	Ошибка! Закладка не определена.
ДОДАТКИ	Ошибка! Закладка не определена.

ВСТУП

Процес регенерації печінки після часткової гепатектомії (ЧГ) є достатньо складним, оскільки включає декілька типів сигнальних мереж, щоб відновити пошкоджену тканину. Кровопостачання через печінку досягає 25% загального кровотоку в спокої. Джерелами кровопостачання є печінкова артерія (30%) і ворітна вена (70%). Печінка виконує низку складних процесів та схильна до порушень, її особливістю є здатність до швидкого відновлення після операційних втручань.

Більшість механізмів, які забезпечують регенерацію печінки ще остаточно не вивчені. Одним з відомих способів запуску процесів регенерації у дослідних тварин, якому науковці віддають перевагу – дослідження після ЧГ [1].

Достатньо давно відомо, що процес регенерації печінки схожий у людей та гризунів, тому останніх найчастіше використовують як модель для оперативних втручань.

Хоча печінка має чудову регенеративну здатність, але ця здатність стає переважаною після гострої травми або резекції. Фахівцями запропоновано низку методів лікування в процесі регенерації пошкодженої печінки, включаючи клітинну терапію, мезенхімальні стовбурові клітини, клітини-попередники печінки і введення різних цитокінів [2].

Щоб вибрати правильний підхід до лікування, важливо зрозуміти, наскільки пошкоджена печінка. Для цього він використовується для професійної та антиоксидантної детоксикації, функції синтезу білка і т.д. проводяться дослідження, що дозволяють провести оцінку. Зокрема, оскільки більшість білків плазми синтезуються в печінці, синтетична функція цього органу в разі часткової резекції тканини знаходиться в центрі уваги дослідників.

Білки плазми складають близько 4% всіх білків організму. За допомогою електрофорезу їх можна розділити на 5 фракцій: альбумін і

глобулін (α 1-глобулін, α 2-глобулін, β -глобулін і γ -глобулін). Альбумін становить близько 60% білків плазми, а глобулін-40% [3].

При нормальному функціонуванні організму концентрація білків постійна, тоді як при запаленні може відбуватися посилений синтез білків гострої фази (фібриноген, трансферин та ін.). У разі колапсу можуть виникати такі патологічні стани, як гіперпротеїнемія, тобто збільшення загального вмісту білків плазми, або навпаки, гіпопротеїнемія – зменшення загального вмісту білків плазми. Існує також особливий випадок парапротеїнемії, при якій в плазмі з'являються білки, що відрізняються від нормального стану.

Коли йдеться про білки плазми, клінічне та діагностичне значення має "білковий коефіцієнт" або A/G – співвідношення альбуміну до глобуліну, який зазвичай становить 1,2-2. [4].

Мета роботи – дослідження динаміки вмісту білкових фракцій плазми крові щурів із токсичним ураженням після часткової гепатектомії.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біохімічні механізми регенерації печінки

Під час регенерації печінки відбувається багато біохімічних процесів, основними з яких є синтез і деградація ДНК. Після хірургічного втручання, тобто часткової гепатектомії, реплікація ДНК активується в гепатоцитах, що залишилися, і втрачені клітини швидко регенеруються. Біохімічні механізми, що контролюють цей процес, включають активацію ДНК-полімерази та фактори, що сприяють деградації ДНК у місці пошкодження.

Слід також звернути увагу на клітинний цикл, який є ключовим для біохімічного процесу загоєння, оскільки він визначає просування клітин через різні стадії клітинного поділу. Регенеративний процес у печінці включає в себе серію жорстко регульованих подій, включаючи фазу G1 (передсинтез), фазу S (синтез), фазу G2 (постсинтез) і фазу M (мітоз). Біохімічні сигнали, такі як фактори росту, цитокіни та мітогенні фактори, активують специфічні каскади протеїнкіназ, регулюють експресію генів і впливають на активність білків клітинного циклу, таких як цикліни та циклінозалежні кінази [6]

На процес регенерації впливають різні фактори. Найбільш очевидним є вік пацієнта. Дослідження показують, що регенерація печінки відбувається швидше і ефективніше у молодих пацієнтів, ніж у літніх. Це може бути пов'язано з вищою ефективністю гепатоцитів і здатністю молодих клітин швидше проліферувати і відновлювати функцію печінки. Однак слід також брати до уваги індивідуальні випадки, оскільки старші пацієнти можуть мати менше ускладнень і можуть сприяти кращій регенерації печінки в цілому.

Необхідно враховувати стан імунної системи. З одного боку, імунна відповідь допомагає знищити пошкоджені тканини і сприяє регенерації. З іншого боку, якщо імунна відповідь не регулюється належним чином, можуть виникнути такі ускладнення, як запалення, які можуть перешкоджати процесу регенерації. Тому важливо підтримувати збалансовану імунну відповідь під час регенерації печінки для досягнення оптимальних результатів.

Щоб визначити відповідну стратегію та прискорити процес реабілітації пацієнтів із цим видом хірургічного втручання, необхідно зрозуміти вплив усіх факторів на регенерацію печінки після гепатектомії. Дослідження в цій галузі допоможуть розкрити молекулярні та клінічні механізми, що лежать в основі регенерації печінки, і можуть допомогти у розробці нових методів лікування та підходів до лікування пацієнтів з ураженням печінки. [6].

1.2. Моделі для регенерації печінки

Модель часткової гепатектомії була вперше описана в 1931 році і досі є широко використовуваною моделлю тварин для вивчення регенерації печінки у тварин. Дві основні характеристики цієї моделі – легке керування та регенераційне середовище. Крім того, зараз існує декілька моделей хімічного ураження. Ці хімічні препарати не тільки супроводжуються регенераційною реакцією, але й активують запальну реакцію в процесі спричинення пошкодження та смерті клітин печінки. Це робить тваринну модель ближчою до регенеративної реакції, яка виникає при захворюваннях печінки людини.

У той же час, оскільки відтворюваність моделі хімічного пошкодження сильніша, ніж у моделях з ЧГ, вона більш підходить для вивчення регенерації печінки при хронічному ураженні печінки.

І нарешті з'явився новий метод моделювання – трансгенна модель. Порівняно з двома іншими методами моделювання, його робота зрозуміліша та більш придатна для вивчення специфічних цитокінів і генів, пов'язаних з регенерацією печінки. Зареєстровані моделі регенерації печінки (рис. 1.2.1) та відповідно їхні характеристики, механізм, переваги та методи, які дають краще розуміння процесу відновлення.

Регенерація компенсується виключно гіпертрофією без поділу клітин після 30% ЧГ, а гіпертрофія передуює проліферації після 70% ЧГ [8]. Оскільки залишилися клітини печінки, які є нормальними, і середовище, де відбувається регенерація, є простим і може використовувати для вивчення часу та ступеня впливу різноманітні. Печінка відразу після пошкодження починає відновлюватися. Протягом 16 годин після резекції печінки у щурів,

починається реплікація ДНК. У класичній моделі 70% гепатектомії решта частини печінки компенсаторно проліферує до 45% початкової маси печінки після 24-годинної резекції, 70% через 72 години, 93% через 7–14 днів і в основному повертається до початкової маси печінки приблизно через 20 днів. Процес регенерації печінки у ссавців подібний до такого у людей, і деякі висновки, отримані на тваринних моделях, також можна застосувати до дослідження печінки людини. В даний час модель ЧГ є основною моделлю для вивчення цитокінів і сигнальних шляхів, пов'язаних з регенерацією печінки.

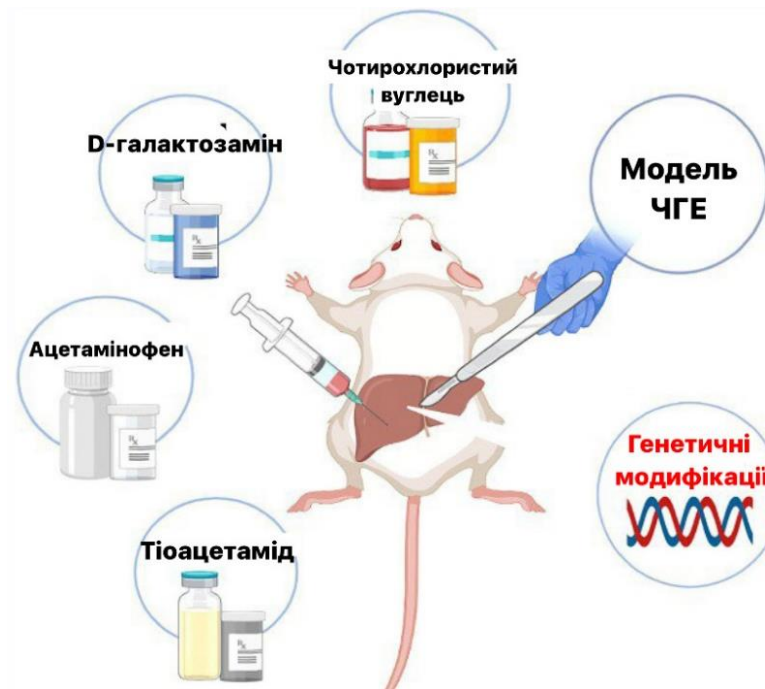


Рис. 1.2.1. Тваринні моделі регенерації печінки [7].

Чотирихлористий вуглець (CCl_4). Пошкодження печінки мишей CCl_4 є найпоширенішою моделлю повторного ураження печінки: Після ураження CCl_4 спочатку відбувається передбачуваний паренхіматозний некроз навколо центральних судин, який досягає піку через 24 години, після чого відбувається регенерація печінки [9].

D-галактозамін (D-gal). Гепатотоксичне ураження, що викликає D-gal, також стало загальною моделлю гострого ураження печінки. У мишей, сенсibilізованих до D-gal, фактор некрозу пухлин як основний медіатор бере участь у всьому процесі регенерації. Він індукує апоптоз гепатоцитів на ранній

стадії гострого ураження печінки та міграцію нейтрофілів на пізній стадії. Печінка мишей, індукованих D-gal, демонструє плямистий некроз та дегенерація через 24 години, а також відновлення через 72 години [22].

Ацетамінофен є найбільш використовуваним анальгетиком у клінічній практиці. Гостра печінкова недостатність (ГПН), спричинена його інтоксикацією, достатньо поширена. Наразі надмірне використання цього препарату у західних країнах є основною причиною ГПН. Метаболізм і механізм індукованого ураження моделі печінкової недостатності на тваринах близькі до клінічної практики. Регенерація печінки після токсичного ураження залежить від дози та часу, і прогрес є комплексним, залучаючи фактори росту, цитокіни, ангіогенні фактори та інші мітогенні шляхи. Ацетамінофен добре всмоктується і зазвичай вводиться шляхом внутрішньочеревної ін'єкції. Однак недоліком цього методу є те, що через низьку розчинність препарату концентрація дози, яка використовується при моделюванні, вища, ніж розчинність при звичайній температурі [10].

Тіоацетамід (ТАА). Багато досліджень виявили, що ТАА може призвести до патологічних змін у печінці. Як добре відомий гепатоканцероген, він може спричиняти різні ступені ураження печінки залежно від часу та дози введення. Важкий перивенозний некроз є основною ознакою гострого ураження печінки, з подальшою регенерацією гепатоцитів, що є корисною моделлю для вивчення гепатоцелюлярної проліферації у відповідь на хімічне пошкодження.

Генетично модифіковані тварини. Важко відтворити властивості печінки людини, використовуючи моделі тварин, викликані СНН або хімічними речовинами. Таким чином, генетично модифіковані тварини вважаються новою моделлю регенерації печінки. Певною мірою ці генетично модифіковані тварини мають ослаблений імунітет.

1.3. Основні стадії процесу регенерації печінки

Динаміка регенеративної здатності печінки вивчена лише частково. У той же час, резекція печінки є методом вибору при первинних і вторинних злоякісних пухлинах печінки та багатьох доброякісних пухлинах. У здорової печінки можна видалити до 80% паренхіми без шкоди для здоров'я. Досвідчені гепатобіліарні та панкреатичні хірурги використовують цю властивість для виконання великих операцій.

Більшість досліджень регенерації печінки після гепатектомії та печінкової недостатності зосереджені на визначенні факторів ризику, клінічних та інтраопераційних факторів. Коли печінка пошкоджена хіміотерапією, метаболічними захворюваннями або несприятливими умовами, в ній розвивається ліпідоз, фіброзироз, паренхіма характеризується зниженою регенеративною здатністю.

У цих випадках необхідно зберегти принаймні 30–40% загального функціонального об'єму печінки, щоб запобігти синдрому малого розміру і, як наслідок, печінковій недостатності після гепатектомії [11].

Лише деякі дослідження, що вивчають динаміку регенерації печінки, зосереджені на клітинних і біохімічних процесах. Дослідження на тваринах показують, що регенерація печінки починається відразу після резекції. Гепатоцити, яких ще називають сплячими клітинами, у фазі G0 клітинного циклу, не є остаточно диференційованими, оскільки вони зберігають здатність до поділу після пошкодження паренхіми. Після резекції печінки відбувається проліферація диплоїдних гепатоцитів, що призводить до швидкого збільшення об'єму печінки протягом десяти днів. Процес регенерації печінки можна умовно розділити на три етапи:

1. Фаза праймінгу, яка починається відразу після пошкодження печінки, обумовлена притоком ліпополісахаридів, отриманих із кишечника, запальними клітинами та сенсibiliзує гепатоцити до циркулюючих факторів росту. Протягом кількох хвилин після резекції печінки відбувається сплеск цитокінів, у якому переважає фактор некрозу

пухлини- α (TNF- α) та інтерлейкін-6 (IL-6). Спрацьовує понад 100 факторів транскрипції ранньої відповіді, що спонукає гепатоцити знову перейти на стадію G1 клітинного циклу.

2. У фазі прогресування фактор росту гепатоцитів (HGF- hepatocyte growth factor), трансформуючий фактор росту α (TGF- α), епідермальний фактор росту (EGF- epidermal growth factor), гепаринзв'язуючий EGF-подібний фактор росту (HB-EGF) активують фактори уповільненої транскрипції генів і стимулюють синтез ДНК і проліферація клітин. Фазу прогресування також називають фазою проліферації через велику кількість гепатоцитів, які піддаються мітозу.
3. Коли регенерація досягає достатнього прогресу, починається фаза термінації, яка в основному індукується TGF- β , а також та інтегрин-асоційованими кіназами. Ця стадія регенерації вивчена дуже погано. Проте дані свідчать про те, що TGF- β 1, який секретується селезінкою, відіграє важливу роль у цьому процесі. TGF- β 1 знижує регуляцію HGF, і спленектомія викликає підвищену проліферації після гепатектомії.

1.4. Білки плазми крові та їх біохімічна роль

Білки, які знаходяться у плазмі крові займають невеликий відсоток порівняно з загальним обсягом. Вимірюючи концентрацію цих білків, можна отримати інформацію про стан в різних системах органів. Основними функціями білків плазми крові є участь у підтримці гомеостазу, транспорті речовин та захисті від інфекцій [12].

Вміст загального білка дає інформацію про загальний стан пацієнта. Для того, щоб отримати більше клінічно корисних даних проводять фракціонування загального білка. Нормальний рівень сироваткового білка становить від 6 до 8 г/дл. Альбумін становить 3,5-5,0 г/дл, решта — загальні глобуліни.

Наступний етап полягає у використанні електрофорезу для подальшого фракціонування. Під час цього процесу розчини білків у відповідних буферних

розчинниках поміщають на середовище, таке як папір або блоки крохмалю, і піддають дії електричного струму. Різниця в їх електричному заряді змушує білкові компоненти мігрувати з різною швидкістю до анода або катода.

Саме за допомогою електрофорезу глобуліни вперше були розділені на чотири групи (фракції) і отримали відповідні назви – $\alpha 1$, $\alpha 2$, β і γ , залежно від їхньої міграційної моделі між анодом і катодом [13].

Кожна з цих груп містить різні типи протеїнів:

Фракція $\alpha 1$ (1-антитрипсин, $\alpha 1$ -глікопротеїн, $\alpha 1$ -фетопропротеїн).

Фракція $\alpha 2$ ($\alpha 2$ -макроглобулін, $\alpha 2$ -макроглобулін, $\alpha 2$ -аполіпопротеїн, $\alpha 2$ -глікопротеїн).

Фракція β (β -глобуліни, які включають трансферин, фібриноген, плазміноген).

Фракція γ (гамма-глобуліни, складаються переважно з імуноглобулінів або антитіл, які в свою чергу поділяються на ізотипи IgM, IgG, IgA, IgD та IgE).

Для оцінки підвищення гамма-фракції використовують імуноелектрофорез. Використовуються специфічні антиплазми до кожного типу імуноглобулінів, щоб визначити чи є збільшення моноклональним (тобто складається з одного типу імуноглобулінів), чи поліклональним (тобто внаслідок збільшення кількості багатьох різних імуноглобулінів).

З приводу альбуміну варто зазначити, що він бере участь у транспортуванні білірубіну, гормонів, металів, вітамінів і ліків, а також відіграє важливу роль у метаболізмі жирів, зв'язуючи жирні кислоти та зберігаючи їх у розчинній формі в плазмі. Зв'язування гормонів альбуміном регулює кількість вільного гормону, доступного в будь-який час. Через свій негативний заряд альбумін також здатний забезпечити деякі аніони, необхідні для збалансування катіонів плазми.

1.4.1. Альбумін та його функції

Альбумін є найпоширенішим циркулюючим білком, що міститься в плазмі і становить більше її половини (приблизно 55-65%). Приблизно від 30

до 40% загального пулу альбуміну в організмі знаходиться у внутрішньосудинному відділі. Залишок локалізується переважно в м'язах і шкірі. Альбумін не поширюється вільно через інтактний ендотелій судин. Це основний білок, який забезпечує значний колоїдно-осмотичний або пухлинний тиск, регулюючи проходження рідини та розчинених речовин через капіляри. Він становить 70% колоїдно-осмотичного тиску [14].

Альбумін синтезується в печінці. У здорових людей швидкість синтезу постійна, коливається від 150 до 250 мг/кг/добу, і 1-10 г альбуміну виробляється за 18 днів при масі тіла 70 кг. Печінка виробляє менше половини цієї кількості. Основними факторами, що впливають на синтез альбуміну, є вплив білкового і амінокислотного харчування, колоїдно-осмотичного тиску, деяких гормонів тощо. Дієти натщесерце і з дефіцитом білка призводять до зниження синтезу альбуміну до тих пір, поки зберігається дефіцит. Вважається, що зниження позасудинного колоїдного тиску діє на печінку і стимулює синтез альбуміну. Гормони щитоподібної залози, кортикостероїди, гормони росту та інсулін посилюють синтез альбуміну. Основне місце деградації альбуміну невідоме. Схоже, що він катаболізується в місцях, які здатні до швидкої рівноваги з кровотоком. Він розкладається на амінокислоти, які використовуються для енергетичних потреб клітини або секретуються в пул позаклітинних амінокислот[15].

1.4.2. Глобуліни та їх біологічне значення

Глобулінова фракція включає близько сотні сироваткових білків, серед них наявні білки-носії, ферменти, комплемент, імуноглобуліни та інші види. Більшість з них синтезується в печінці, за винятком імуноглобулінів, які синтезуються плазматичними клітинами.

Збільшення фракції глобулінів зазвичай є наслідком підвищення імуноглобулінів, але іноді може спостерігатися збільшення інших білків при патологічних станах, які мають характерні електрофоретичні моделі. Недоїдання і вроджена імунна недостатність можуть викликати зниження

загальних глобулінів через зниження синтезу, а нефротичний синдром – зниження через втрату білка через нирки [16].

При детальному вивченні імуноглобулінів, тобто антитіл, варто зазначити що вони мігрують переважно в γ -області, але деякі також мігрують у β - та α_2 -областях. Кожна молекула імуноглобуліну складається з двох важких ланцюгів, які належать до одного класу, і двох легких ланцюгів, які також однакові. Кожен важкий ланцюг має варіабельну ділянку (в якій амінокислотні залишки роблять кожен ланцюг відмінним від наступного) і константну ділянку (в якій дуже мало амінокислотних відмінностей від константної ділянки будь-якого іншого імуноглобуліну цього типу важкого ланцюга). Легкі ланцюги належать до типу λ або κ і мають постійні та варіабельні ділянки. Різні типи імуноглобулінів позначаються великими літерами, які відповідають типу важкого ланцюга: IgG, IgA, IgM, IgE та IgD. Три чверті рівня імуноглобулінів у нормальній плазмі є типом IgG. Багато антитіл до бактерій і вірусів є IgG.

Нормальний набір молекул IgG складається з незначних кількостей різних антитіл IgG, що утворюються з різних клонів плазматичних клітин; тому він поліклональний. Якщо окремий клон виходить із нормального контролю, він може надмірно розмножуватися та синтезувати надлишок моноклонального білка з одним класом важкого ланцюга та типом легкого ланцюга [15].

1.5. Клініко-діагностичне значення білків плазми крові

Існують різні патологічні стани пов'язані з кількістю білків плазми крові. Серед них можна виділити такі, як гіперпротеїнемія (підвищення концентрації білка в плазмі), гіпопротеїнемія (зниження) та диспротеїнемія (порушення співвідношення протеїнових фракцій плазми крові).

Гіперпротеїнемія – аномальне підвищення концентрації білка в плазмі, яке може клінічно ускладнити інші серйозні захворювання, такі як множинна мієлома, нефропатія, цироз печінки, інфекція і пневмонія.

Гіпопротеїнемія може бути викликана цирозом печінки, в результаті якого відбувається посилене вироблення глобуліну у відповідь на хронічне запалення, яке може призвести до пошкодження тканин. Аналогічно, гострі та хронічні інфекції викликають посилене вироблення гострих білків та імуноглобулінів, таких як С-реактивні білки, які збільшують загальну концентрацію білка в плазмі [17].

Також є ще один паталогічний стан такий, як диспротеїнемія, при якому рівень білків у крові змінюється, зазвичай через неправильний баланс різних білкових компонентів. Може відбуватися як збільшення, так і зменшення загального рівня білків у крові, а також зміни у співвідношенні різних білкових фракцій.

Для наукового вивчення диспротеїнемії використовуються такі методи, як електрофорез білків плазми, імуногелелектрофорез, імуноблотування та імуногістохімічні методи. Вони дозволяють визначити рівень та склад різних білкових компонентів у крові та встановити можливі зміни, пов'язані з патологічними процесами [18].

Клінічною ситуацією, яка викликає підвищення рівня альбуміну в плазмі крові (гіпоальбумінемія), може бути інтоксикація лікарськими препаратами, гостра травма або хірургічне втручання. Різноманітність клінічних проявів призводить до зниження рівня альбуміну внаслідок пригніченого синтезу або збільшення втрат. Наслідком зниження сироваткового альбуміну є переміщення рідини з внутрішньосудинного в інтерстиціальний простір, що призводить до зменшення внутрішньосудинного об'єму та утворення набряку.

Будь-яке збільшення або зменшення фракції глобулінів слід оцінювати за допомогою електрофорезу плазми. Шаблон треба візуально перевірити на наявність аномалій у певних регіонах [19].

До фракції α_1 входить α_1 -антитрипсин. Значне зниження цієї фракції спостерігається у пацієнтів із вродженим дефіцитом α_1 антитрипсину;

збільшення спостерігається при гострих запальних захворюваннях, оскільки α_1 антитрипсин є реактантом гострої фази.

Основні білки, що мігрують в α_2 -області, включають α_2 -макроглобулін і гаптоглобін. При нефротичному синдромі спостерігається підвищення α_2 макроглобуліну, коли з сечею втрачаються білки з низькою молекулярною масою. Гаптоглобін збільшується у відповідь на стрес, інфекцію, гостре запалення або некроз тканин, можливо, стимулюючи синтез. Гаптоглобін утворює комплекс з вільним гемоглобіном і виводиться з кровотоку, тому рівень гаптоглобіну знижується після реакції гемолізу.

Основним β -глобуліном є трансферин. Підвищення відбувається при гострому дефіциті заліза. Крім того до цієї фракції належать фібриноген (білок зсідання крові), ліпопротеїни, які забезпечують транспорт ліпідів і глобулін (глікопротеїн), який зв'язує статеві гормони (естрадіол і тестостерон).

Найчастішими аномаліями в γ -області є поліклональне збільшення на широкій основі або вузький моноклональний сплеск. Поліклональні підвищення спостерігаються при хронічних інфекціях, захворюваннях сполучної тканини та захворюваннях печінки. Моноклональні спайки вказують на множинну мієлому, макроглобулінемію Вальденстрема, первинний амілоїдоз, лімфому або моноклональну гаммопатію. Аномалії, що демонструють моноклональні сплески в гамма-області, слід додатково оцінити за допомогою імуноелектрофорезу.

Співвідношення альбумін-глобулін (А/Г) може мати більшу клінічну значущість і може використовуватися як індекс стану захворювання, але оскільки воно не вказує на конкретні білки, співвідношення яких було змінено, його не можна використовувати як окремий маркер. Як правило, нормальний А/Г становить 0,8-2,0, і нижчі значення можуть свідчити про тривале підвищення смертності онкологічних пацієнтів.

Низькі значення співвідношення А/Г можуть означати різні приклади: альбумін в нормі, але високий глобулін; низький альбумін, але високий глобулін; глобулін в нормі, альбумін понижений.

Високий рівень глобуліну, як правило, є ознакою запалення та активації імунної системи для боротьби з інфекцією чи захворюванням.

Низький рівень найчастіше означає надмірне виведення альбуміну через нирки або знижене утворення альбуміну в печінці. Хронічні запальні стани також можуть сприяти гіпоальбумінемії, збільшуючи проникність кровоносних судин, дозволяючи альбуміну просочуватися в навколишні тканини. Хронічні запальні стани також збільшують проникність судин, сприяючи гіпоальбумінемії та дозволяючи альбуміну проникати в навколишні тканини.

Високі результати співвідношення А/Г зустрічається рідше. Дана ситуація, при якій альбумін може аномально підвищуватися – це сильне зневоднення. У таких випадках альбумін буде збільшуватися по відношенню до зменшення об'єму плазми крові [20].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та методи досліджень

Дослідження проводили на білих безпородних щурах масою від 110 до 130 г і віком від 2,5 до 3 місяців, які перебували у приміщенні віварію зі стандартною температурою ($22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), відотною вологістю ($50 \pm 10\%$) і циклом "світло-темрява" (12/12 годин) та споживали раціон для лабораторних тварин. Вони мали вільний доступ до питної води, яку попередньо кип'ятили. Тварин утримували на базі віварію кафедри біохімії та біотехнології ЧНУ ім. Ю. Федьковича.

Всі маніпуляції з тваринами здійснювали відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих на 7-й Національній конференції з біоетики (2018 р.) та відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» підписаної в Страсбурзі 1986 року.

Токсичне ураження щурам моделювали загальновідомим гепатотоксином – ацетамінофеном, який вводили в дозі 1250 мг/кг маси тварини. Препарат розчиняли в 2% розчині крохмалю та вводили впродовж 2 днів приблизно в однаковий час [21].

Регенерація печінки, викликана ЧГ, в основному залежить від розміру функціональної резецованої печінки. Щуряча модель 2/3 гепатектомії, розроблена Андерсоном і Хігінсом багато років тому отримала широке визнання. Перевага 2/3 гепатектомії у щурів для індукції регенерації печінки полягає в тому, що анатомічна структура щура є однорідною, і спеціаліст може повторити резекцію в різних пропорціях з високою точністю. Крім того, оскільки ступінь пошкодження моделі пропорційний розміру розрізаної частки печінки, модель легко масштабувати.

Модель регенерації гепатектомії передбачає перев'язування двох часток печінки (зазвичай латеральної та медіальної), що здійснюється шляхом хірургічного втручання. Це потрібно для створення часткового венозного блокування.

Під час операції дії проводились в наступній послідовності: ідентифікація печінкових часток, лігування печінкових судин і видалення лівої та середньої часток печінки, що становить приблизно 70% від загальної маси печінки. Після проведення резекції рану зашивали за допомогою хірургічних швів. Після операції всіх тварин поміщали до індивідуальних кліток для спостереження за відновленням.

Дослідні тварини були поділені на дві групи:

1. інтактні (здорові) щури, яким проводили часткову гепатектомію (К/ЧГ).
2. щури, яким після токсичного ураження ацетамінофеном здійснювали часткову резекцію печінки (ТУ/ЧГ).

В ході експерименту дотримувалися усіх етичних норм, використовуючи анестезію під час операційних утручань та попередню стерилізацію інструментів, необхідних під час хірургічного втручання. Забір крові відбувався через 24 (фаза праймінгу), 48 (період активної проліферації клітин), 72 (фаза термінації) та 168 годин (віддалений період) після проведення ЧГ.

Процес виведення всіх тварин з експерименту включав в себе застосування легкого ефірного наркозу та цервікальну дислокацію шийних хребців [22].

2.2. Метод отримання плазми крові

Кров відбирали із ворітної вени печінки в центрифужні пробірки із антикоагулянтом, в даному випадку ним виступав 5% цитрат натрію. Після чого пробірки поміщали у центрифугу, швидкість складала 2000 обертів за хвилину, час центрифугування – 15 хв.

Отриману плазму зберігали в морозильній камері, для уникнення розвитку в ній мікроорганізмів та збереження біологічної активності білків для подальшої роботи з їхніми фракціями.

2.3. Визначення вмісту білкових фракцій

Визначення вмісту білкових фракцій плазми крові проводили турбідиметричним методом, використовуючи набір реагентів фірми «Філісіт-Діагностика» відповідно до інструкції виробника.

Принцип методу ґрунтувався на тому, що фосфатні розчини визначеної концентрації осаджують різні білкові фракції плазми крові з утворенням дуже дрібної суспензії. За ступенем каламутності розчинів роблять висновок про співвідношення білків у дослідному матеріалі.

У наборі реагентів були наявні 5 фосфатних буферів відповідно пронумеровані (№1, №2, №3, №4, №5) а також основний фосфатний буфер «0».

При проведенні досліджень пронумерували 7 пробірок цифрами «0», «1», «2», «3», «4», «5», «6». На першому етапі у пробірку «0» вносили 2,5 мл дистильованої води, а в пробірки «1», «2», «3», «4», «5» відповідні фосфатні буфери (№1-№5) в тій же кількості кожен. У пробірку «6» додавали: основний фосфатний буфер «0» (1,880 мл), дистлят (0,375 мл), плазму (0,250 мл) після чого добре змішати.

Наступним етапом було перенесення реакційної суміші з пробірки «6» піпеткою перенести по 0,250 мл в пробірки «0», «1», «2», «3», «4», «5».

Суміш залишали на 15 хв, після чого проводили вимірювання на фотометричному обладнанні, в діапазоні 620-700 нм.

Для розрахунку показників екстинкції (Е) альбумінів із показника Е1 проби вираховували показник Е другої проби.

- для $\alpha 1$ -глобулінів. Із показника Е2 пробірки вираховували показник Е3 пробірки.
- для $\alpha 2$ -глобулінів. Із показника Е3 пробірки вираховували показник Е4 пробірки.
- для β -глобулінів. Із показника Е 4 пробірки вираховували показник Е5 пробірки.
- Показник Е5 пробірки вважали показником Е γ -глобулінів.

Вміст кожної фракції обраховували у % або абсолютних одиницях (г/л). Якщо співвідношення білкових фракцій виражали у %, то для розрахунків підсумовували екстинкції окремих білкових фракцій, приймаючи дану суму за 100%. Відсотковий вміст окремих білкових фракцій розраховували за простою арифметичною пропорцією.

При розрахунку білкових фракцій в абсолютних одиницях (г/л), суму екстинкцій співвідносили з величиною загального білка плазми крові, а окремі білкові фракції розраховують за арифметичною пропорцією та виражають в г/л.

2. 4 Статистичний аналіз результатів

Аналіз даних був проведений за допомогою табличного редактора *Microsoft Excel 2013*. Були внесені показники вибірки, які формувались в окремі групи, обраховували середнє арифметичне значення і середнє квадратичне відхилення.

Статистично достовірною різницею порівняно з контролем вважалась, якщо $P \leq 0,05$. У роботі результати представлені у вигляді $M \pm m$ [23]

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Важливість відновлення печінки як основного гомеостатичного органу полягає в тому, щоб після видалення її двох третин ($2/3$) у щурів, залишкова тканина здатна швидко регенерувати, відновлюючи початковий об'єм та функцію органу за декілька тижнів. Основні клітини печінки, гепатоцити, активно проліферують для подальшого відновлення. Вони переходять з фази спокою (G_0) в фазу активного поділу (G_1), що запускає регенерацію.

Печінка вважається єдиним органом, який використовує регенеративні механізми, щоб гарантувати, що співвідношення печінки та маси тіла завжди становить 100% від необхідного для гомеостазу організму. Наприклад інші органи (такі як легені, нирки та підшлункова залоза) пристосовуються до втрати тканин, але не повертаються до 100% норми. Поточний стан знань про регенеративні шляхи, які лежать в основі цього «гепатостатика» сьогодні залишаються актуальними. Відновлення печінки після гострого пошкодження завжди є корисним і ретельно вивчається. Експериментальні моделі, які включають часткову гепатектомію або хімічне ушкодження, виявили позаклітинні та внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, які використовуються для повернення печінки до еквівалентного розміру та ваги до тих, що були до ушкодження. З іншого боку, хронічна втрата гепатоцитів, яка може виникнути при хронічному захворюванні печінки будь-якої етіології, часто має несприятливі наслідки, включаючи фіброз, цироз та неоплазію печінки.

Моделі реколонізації печінки продемонстрували, що гепатоцити мають необмежену регенеративну здатність. Однак у нормальній печінці обмін клітин відбувається дуже повільно. Усі зони спочиваючих часток печінки однаково беруть участь у підтримці популяцій гепатоцитів і холангіоцитів у нормальній печінці [24].

Після ЧГ спостерігається підвищення кількості сигнальних молекул у периферичній крові. До них належать HGF, норадреналін, TNF, IL6, жовчні кислоти, серотонін, TGF β 1, гіалуронова кислота тощо. Походження кожної з цих речовин, що підвищуються в крові під час регенерації печінки, неясно (за

винятком жовчних кислот, які утворюється тільки в печінці). Зазвичай норадреналін очищається печінкою, тому зменшення маси печінки, пов'язане зі зниженим кліренсом, може спричинити підвищення рівня катехоламінів. Продукція TNF та IL6 збільшується в печінці після ЧГ, але потенціал продукції цих цитокінів іншими органами не досліджувався [25].

Відкритим залишається питання відновлення функцій печінки після хірургічної резекції органу за умов гострого токсичного ураження, зокрема синтетичної.

Результати проведених досліджень показали, що в контрольній групі щурів, яким здійснювали часткову резекцію печінки, зниження вмісту альбумінів відбувається на 24 та 48 год, що свідчать про розвиток гіпоальбумінемії. Натомість в групі тварин із токсичним ураженням ацетамінофеном, яким виконували хірургічне втручання, найнижчі значення даного показника зареєстровано в період праймінгу з незначною тенденцією до підвищення, які так і не досягають початкового рівня групи ТУ навіть у віддалений період (168 год). Встановлений нами розвиток гіпопротеїнемії за даних експериментальних умов можна вважати критичним фактором, оскільки альбумін є основним резервним білком організму.

Гіпоальбумінемія – патологічний стан, при якому зафіксоване зниження альбуміну в крові. Причиною цього може бути зменшення його синтезу в печінці, збільшення витрати на інші потреби або порушення його розподілу в організмі. Однак найкритичніше відхилення від норми може спостерігатися при гострому захворюванні, після травми або хірургічного втручання, а також при хронічних запальних захворюваннях [26].

При гострих ранах та токсичній дії різних агентів, чим в нашому експерименті виступає подвійне навантаження у вигляді часткової гепатектомії й токсичного ураження ацетамінофеном репаративна регенерація стимулюється цитокінами, які під час імунної відповіді підтримують зв'язок між клітинами та підтверджено попередніми результатами наукових досліджень в розрізі даної тематики.

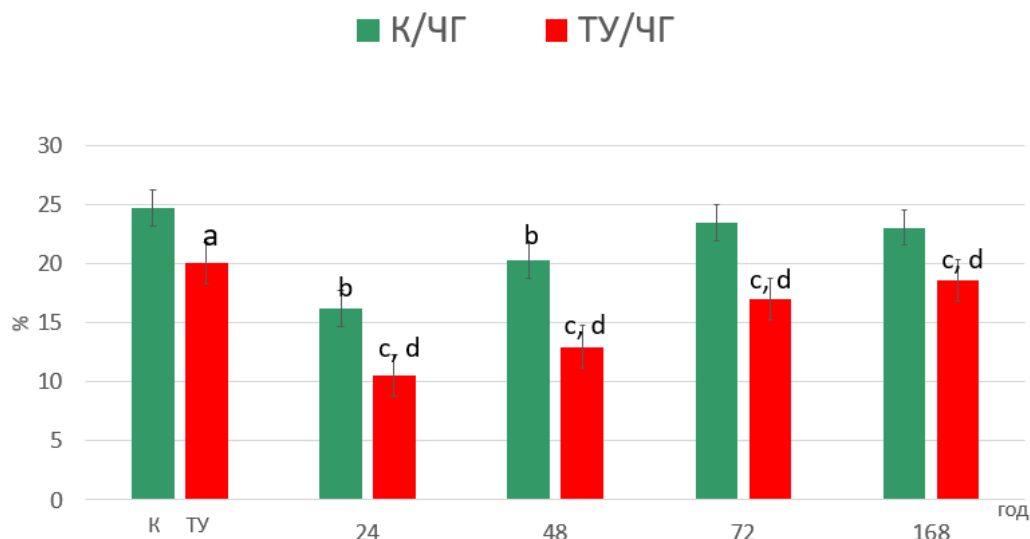


Рис. 3.1 Вміст альбуміну в плазмі крові щурів із токсичним ураження після часткової резекції печінки

Примітка (тут і на далі): К – інтактні щури; ТУ – щури після токсичного ураження ацетамінофеном; а – статистично достовірна різниця порівняно з контролем; b – статистично достовірна різниця з показниками групи К/ЧГ; c – статистично достовірна різниця з групою ТУ/ЧГ; d – статистично достовірна різниця групи ТУ/ЧГ з К/ЧГ.

Існує дві фази експресії цитокінів. У початковій прозапальній фазі уражена ділянка готується до репарації шляхом видалення уламків макрофагами, сприяння ангіогенезу та підвищення проникності. У цій фазі спостерігається переважання Th1-хелпер-індукованого вивільнення цитокінів і факторів росту. У подальшій протизапальній фазі переважають механізми загоєння, які відіграють важливу стимулюючу роль для активності Th2-хелперів.

Печінка є центром синтезу білків плазми, метаболізму глюкози та ліпідів. Метаболічне перепрограмування в печінці може впливати на прогресування захворювань печінки. Альбумін, важливий білок, який синтезується в печінці, має значний вплив на її функціонування. Альбумін використовується для лікування гіпоальбумінемії у пацієнтів з цирозом завдяки своїй здатності підтримувати онкотичний тиск плазми. Численні клінічні випробування показали, що ін'єкції альбуміну корисні для лікування

та ускладнень цирозу, покращуючи прогноз і виживання пацієнтів з гепаторенальним синдромом.

Цироз характеризується незворотним пошкодженням печінки, системним запаленням і підвищеним окислювальним стресом. За останні десять років було виявлено, що структурні аномалії альбуміну у пацієнтів з цирозом включають цистеїнізацію, сульфидування, часткове переривання кінців молекул та глікозилювання. З прогресуванням захворювання печінки спостерігається значне зниження нормального альбуміну та збільшення змінених форм альбуміну.

Також було встановлено, що рівень окисленого альбуміну в сироватці крові зростає з тяжкістю захворювання печінки. У пацієнтів з цирозом, крім структурних змін альбуміну, виявлено порушення його зв'язувальної функції. Це свідчить про те, що між структурними аномаліями та функціональними порушеннями альбуміну може існувати зв'язок [27].

Щодо фракції $\alpha 1$ -глобулінів в плазмі крові щурів контрольної групи нами зареєстровано, що в здорових щурів, яким здійснювали часткову резекцію печінки, підвищення рівня даного показника відбувається впродовж всього експериментального періоду з максимальними значеннями під час фази активної проліферації клітин (48 год) та у віддалений період (168 год) (рис 3.2).

Натомість у щурів, яким попередньо здійснювали токсичне ураження ацетамінофеном після часткової гепатектомії на 24 годину нами зареєстровано зниження рівня $\alpha 1$ -глобулінів порівняно з групою ТУ. На 48 та 72 години регенераційного процесу статистично вірогідних змін даного показника порівняно зі значеннями групи ТУ нами не зафіксовано, однак відмічено зростання на віддалених термінах експерименту (168 год).

Одним із основних $\alpha 1$ -глобулінів є $\alpha 1$ -антитрипсин, який є потужним інгібітором протеаз. Під час гострої фази запалення, концентрація $\alpha 1$ -антитрипсину підвищується, щоб контролювати протеолітичну активність, яка може пошкодити тканини [28]. Це важливо для зменшення запалення і забезпечення захисту тканин під час регенерації печінки, що узгоджується з

результатами наших досліджень у тварин контрольної групи, яким проводили ЧГ.

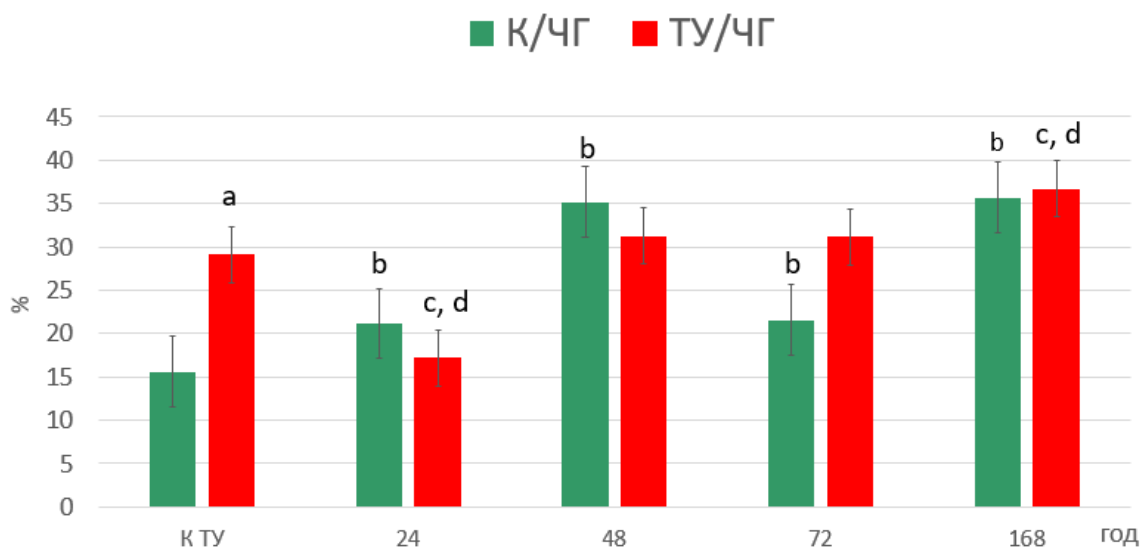


Рис 3.2 Вміст α 1-глобулінів в плазмі крові щурів із токсичним ураження після часткової резекції печінки

Хоча α 1-глобуліни є білками гострої фази, їх синтез може бути спочатку знижений через масивне пошкодження печінкової тканини, оскільки організм перемикає свій білковий синтез на білки, необхідні для відновлення і регенерації. Після видалення частини печінки синтез білків гострої фази, таких як α 1-глобулін, допомагає захистити решту тканин від запалення та пошкодження. Вони забезпечують контроль активності протеаз і допомагають відновити гомеостаз [29].

Виходячи з отриманих нами результатів щодо рівня α -1 глобулінів у плазмі крові щурів із токсичним ураженням контроль здатності протеолітичної активності не лише пригнічується на початкових етапах регенерації, але й відтерміновується практично на 7 днів і починає відновлюватися у цій групі тварин лише у віддалений період регенераційного процесу.

Альфа2-глобулін важливий білок при регенерації, який включає гострофазні білки (альфа2-макроглобулін, гаптоглобін та ін.) і безпосередньо бере участь у розвитку інфекційних і запальних реакцій.

Щодо фракції α 2-глобулінів в плазмі крові щурів контрольної групи, яким здійснювали часткову гепатектомію, зафіксовано підвищення значень лише у фазу праймінгу порівняно з контрольними величинами. Водночас в групі щурів ТУ/ЧГ зареєстровано підвищення відсоткового вмісту альфа2-глобулінів на ранній стадії відновлення паренхіми печінки (24 год) та в період активної проліферації клітин (48 год) (рис 3.3).

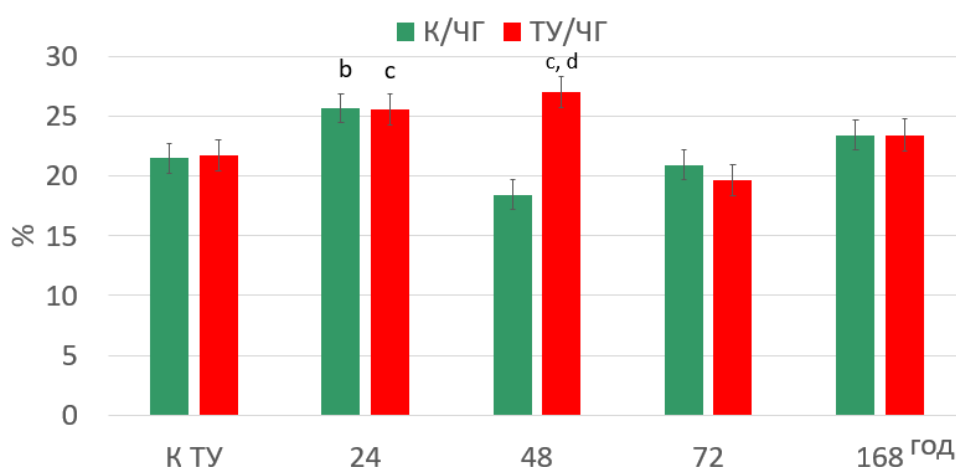


Рис 3.3 Вміст α 2-глобулінів в плазмі крові щурів із токсичним ураження після часткової резекції печінки

З літературних джерел [30] відомо, до складу фракції альфа2-глобулінів входять церулоплазмін, гаптоглобін, альфа2-макроглобулін тощо. Наприклад, α 2-макроглобулін (α 2M) є білковим інгібітором із широкою специфічністю у людини. α 2M пригнічує хімазу, серинову протеазу тучних клітин. Хоча це не білок гострої фази у людей, він є типовим білком гострої фази у щурів. Сироваткові концентрації α 2M показують підвищену чутливість, ніж α 1-кислий глікопротеїн у щурів у відповідь на запальну стимуляцію. Таким чином, α 2M є корисним маркером запалення у щурів, що вказує на розвиток запальних процесів у щурів з токсичним ураженням після ЧГ впродовж 48 год [31].

Крім того, за рівень підвищення відсоткового вмісту альфа2-глобулінової фракції плазми крові може відповідати гаптоглобін, який синтезується в печінці, а його рівні зростають у відповідь на цитокіни, такі як інтерлейкін-6 і фактор некрозу пухлини- α , які вивільняються під час стресу і пошкодження тканин.

Після часткової гепатектомії та токсичного ураження ацетамінофеном рівень цитокінів у крові підвищується, стимулюючи печінку та збільшуючи синтез гаптоглобіну. Він утворює комплекс з вільним гемоглобіном, який виділяється під час гемолізу. Цей комплекс захищає організм від токсичного впливу вільного гемоглобіну, особливо окисного стресу, викликаного гемом і залізом. Комплекс гаптоглобін-гемоглобін розпізнається рецепторами на макрофагах, після чого швидко виводиться з кровотоку через рецептори клітин печінки і селезінки, що пришвидшує процес відновлення.

Гаптоглобін допомагає підтримувати гомеостаз у крові, захищаючи організм від шкідливих наслідків гемолізу та запалення, що важливо для успішної регенерації печінки [32].

Не менш важливими є β -глобуліни – білки плазми крові, до яких належать трансферин та фібриноген. Вони відіграють значну роль у процесах відновлення тканин та запальних реакціях.

З рис. 3.4 видно, що зниження рівня β -глобулінів у групи К/ЧГ відбувається у фазу праймінгу (24 год) та проліферації (48 год), а у щурів з частковою гепатектомією та токсичним ураженням низькі значення даного показника спостерігаються протягом всього експериментального періоду.

Найбільш відомими білками даної фракції є трансферин та фібриноген. Трансферин зв'язується з іонами феруму і може транспортувати його до тканин печінки, що потрібно для процесу проліферації, яка сприяє відновленню. Зниження рівня цього білка під час інфекційних або запальних захворювань обумовлено його роллю як негативного білка гострої фази.

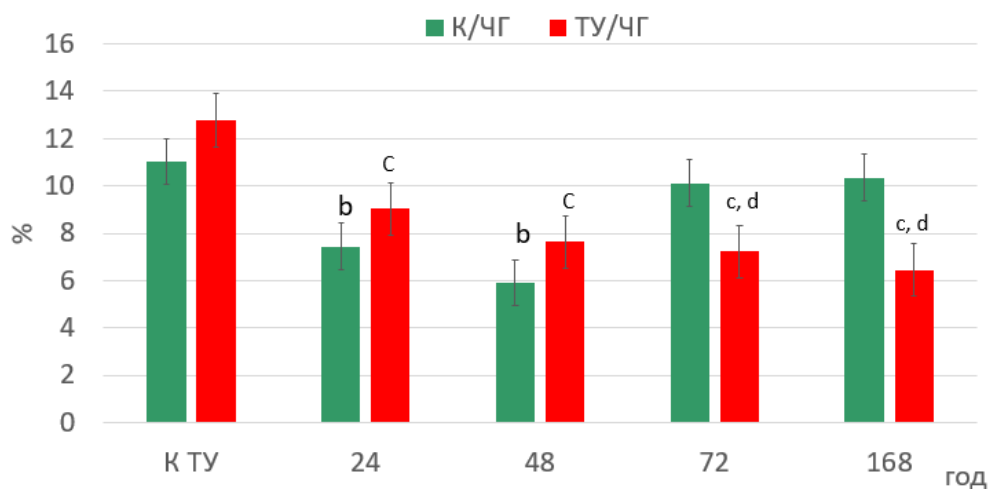


Рис 3.4 Вміст β-глобулінів в плазмі крові щурів із токсичним ураження після часткової резекції печінки

Під час запалення та стресу підвищується концентрація інтерлейкіну-1 (IL-1), інтерлейкіну-6 (IL-6) та фактора некрозу пухлини-α (TNF-α), які спричиняють зниження синтезу трансферину в печінці [33].

Фібриноген є фактором зсідання крові, який бере участь у формуванні фібринового згустку, що сприяє загоєнню ран. За фізіологічних умов синтез фібриногену підвищується в печінці, сприяючи утворенню фібринового згустку та відновленню пошкоджених тканин. Фібриноген також впливає на експресію прозапальних факторів, що підсилює запальну реакцію [34].

Можна припустити, що у групі щурів з токсичним ураження після часткової резекції низькі показники на протязі всього періоду пов'язані зниженням фібриногену, який впливає на зсідання крові і при таких кількостях може виникати ризик внутрішньої кровотечі.

Білки γ-глобуліни, також відомі як імуноглобуліни, є гетеродимерними білками, що складаються з двох важких (H) і двох легких (L) ланцюгів. Вони відіграють ключову роль в імунній відповіді організму. Імуноглобуліни розділяються на різні класи (IgM, IgG, IgA, IgD, IgE), кожен з яких має свої специфічні функції.

З приводу γ -глобулінів чітко можна прослідкувати, що у групі здорових щурів, яким здійснювали резекцію печінки найвищі показники зареєстровано на 24 та 48 години, що свідчить про активну імунну відповідь. Після 72 години відбувається зниження до рівня контролю, оскільки після досягнення необхідної маси печінки, проліферація клітин припиняється і орган повертається до гомеостазу.

У групі ТУ/ЧГ підвищення кількісного вмісту γ -глобулінів зафіксоване до фази термінації.

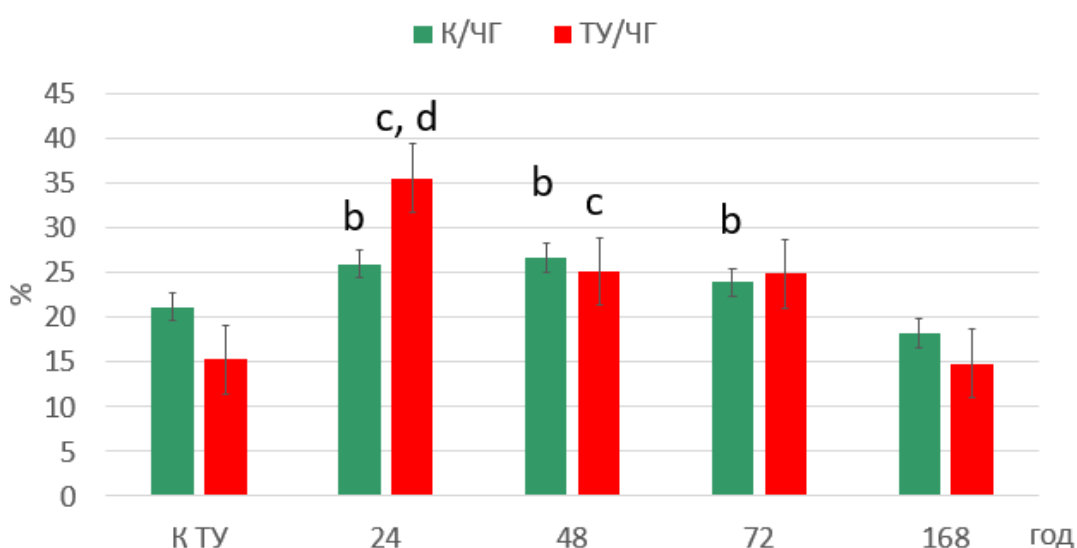


Рис. 3.5 Вміст γ -глобулінів в плазмі крові щурів із токсичним ураження після часткової резекції печінки

Активну імунну у контрольній групі щурів, яким робили часткову гепатектомію, у фазі праймінгу може вказувати на активацію В-клітин та підвищенням продукції імуноглобулінів у відповідь на запалення та ушкодження тканин.

Цитокіни, такі як інтерлейкін-4 (IL-4), інтерлейкін-6 (IL-6), фактор стимуляції колоній гранулоцитів та інтерферон- γ , стимулюють проліферацію В-клітин і підвищують продукцію імуноглобулінів. Також така реакція може бути внаслідок реакції окремих імуноглобулінів IgM, який підвищується на ранніх стадіях запальної відповіді і IgG відповідає на хронічні та довготривалі

запальні процеси, і його рівень може бути підвищений через кілька днів після ушкодження. IgA пов'язаний з імунною відповіддю та може брати участь у захисті печінки, як реакція на токсичне ураження.

У віддалений період значення знаходяться на рівні контролю, що вказує на досягнення необхідної маси печінки та повернення органу до гомеостазу [35].

У групі з токсичним ураженням ацетамінофеном спостерігається підвищення рівня γ -глобулінів на 24 годину, що свідчить про активну імунну відповідь на початковій стадії. Це підвищення може бути обумовлене дією цитокінів, таких як IL-6 та TNF- α , які стимулюють імунну відповідь і підвищують продукцію γ -глобулінів. Однак, після цього спостерігається чітка тенденція до зниження рівня γ -глобулінів після фази праймінгу. Це може бути пов'язано з виснаженням ресурсів або пошкодженням імунних клітин, що призводить до зниження рівня γ -глобулінів у крові.

Проаналізувавши зміни рівня гамма-глобуліну після часткової гепатектомії та після токсичного ураження печінки, можна зробити висновок, що активна імунна відповідь та синтез імуноглобулінів, регульованих цитокінами, суттєво змінюються в умовах стресу та пошкодження тканин.

У контрольній групі спостерігається тимчасове підвищення рівня γ -глобуліну, що свідчить про активну імунну відповідь, а в групі з токсичними ураженнями швидке зниження рівня γ -глобуліну може свідчити про виснаження імунних ресурсів і пошкодження імунних клітин. Таке тривале зниження рівня гамма-глобуліну в групі ТУ/ЧГ може призвести до ослаблення імунної системи, підвищеного ризику зараження і ускладнень відновних процесів в організмі.

Отже, у здорових тварин після ЧГ встановлена диспротеїнемія відбувається за рахунок зниження вмісту альбуміну, підвищення фракцій $\alpha 1$ -, $\alpha 2$ -, γ -глобулінів, з одночасним зниженням фракції β -глобулінів переважно на ранніх стадіях регенерації. Натомість у групі щурів, яким здійснювали токсичне ураження ацетамінофеном у віддалений період зафіксоване

підвищення кількісного вмісту альбумінів, α_1 - та α_2 -глобулінів, але зниження β - та γ -глобулінів.

ВИСНОВКИ

1. У контрольних щурів, яким здійснювали часткову гепатектомію, зниження альбуміну в плазмі крові відбувається на ранніх етапах регенерації – у фазу праймінгу (24 год) та проліферації (48 год), тоді як у групі щурів із токсичним ураженням ацетамінофеном виражена гіпоальбумінемія спостерігається впродовж всього експерименту.

2. У здорових тварин після резекції печінки диспротеїнемія відбувається за рахунок підвищення фракцій α_1 -, α_2 -, γ -глобулінів з одночасним зниженням фракції β -глобулінів переважно на ранніх стадіях регенерації.

3. Регенераційний період у щурів із токсичним ураженням ацетамінофеном після ЧГ на ранніх стадіях (24 та 48 год) характеризується зниженням рівня α_1 - та β -глобулінів з одночасним підвищенням вмісту α_2 - та γ -глобулінової фракції, тоді як на завершальних етапах – зростанням вмісту альфа1-глобулінів та зниженням бета-глобулінів.