

**Біохімічні маркери розвитку холестазу в
щурів із токсичним ураженням після часткової
гепатектомії**

Кваліфікаційна робота

Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)

Виконала:

студентка 4 курсу, 400 А групи
спеціальності 091 Біологія

Яцюк Анастасія Ігорівна

Керівник:

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

Анотація

Бакалаврська робота присвячена дослідженню біохімічних маркерів розвитку холестазу в щурів із токсичним ураженням після часткової.

Встановлено, що в здорових щурів, яким здійснювали часткову резекцію тканин печінки, підвищені рівні лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази в сироватці крові зареєстровано лише на ранніх стадіях регенераційного процесу – фазі праймінгу (24 год) та активної проліферації клітин (48 год). У тварин із токсичним ураженням збільшуються рівні ЛФ та ГГТ в сироватці крові протягом усього періоду відновлення печінки, з найвищим рівнем під час фази термінації та на останніх стадіях відновлення.

Показано, що в щурів з токсичним ураженням на початкових стадіях відновлення тканини печінки (24 та 48 год) збільшується рівень загального білірубіну в сироватці крові за рахунок зростання вмісту як прямого, так і непрямого білірубіну, тоді як на термінальних стадіях переважає некон'югована гіпербілірубінемія.

Ключові слова: гамма-глутамілтрансфераза, лужна фосфатаза, білірубін, холестаз, токсичне ураження, ацетамінофен, регенерація печінки.

Summary

The bachelor's thesis is devoted to the study of biochemical markers of the development of cholestasis in rats with toxic damage after partial.

In healthy rats, which underwent partial resection of liver tissues, the levels of alkaline phosphatase and gamma-glutamyltransferase in blood serum were increased only in the early stages of the regeneration process, that is, in the phase of priming (24 hours) and active cell proliferation (48 hours). At the same time, in animals with a toxic lesion, serum levels of ALP and γ GT increase throughout the period of liver recovery, with the highest level during the termination phase and in the last stages of recovery.

In rats with toxic damage, in the initial stages of liver tissue recovery (24 and 48 hours), the level of total bilirubin in the blood serum was accelerated due to an increase in the quantitative content of the direct and indirect fraction, while in the terminal stages, unconjugated hyperbilirubinemia prevails.

Key words: gamma-glutamyltransferase, alkaline phosphatase, bilirubin, cholestasis, toxic injury, acetaminophen, liver regeneration.

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

_____ А.І. Яцюк

(підпис)

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1. Біохімічні механізми токсичного ураження печінки	6
1.1.1. Ацетамінофен як гепатотоксин	9
1.2. Особливості регенерації печінки.....	10
1.3. Особливості розвитку холестазу при медикаментозному ураженні печінки.....	12
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	17
2.1. Об'єкти та методи досліджень.....	17
2.2. Отримання сироватки крові	17
2.3. Робота на біохімічному аналізаторі НТІ Віосhem FC-120.....	18
2.4. Визначення вмісту загального, прямого і непрямого білірубіну.....	19
2.5. Визначення активності лужної фосфатази	19
2.6. Визначення активності гамма-глутамілтрансферази	20
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	21
ВИСНОВКИ.....	31
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	Ошибка! Закладка не определена.
ДОДАТКИ.....	Ошибка! Закладка не определена.

ВСТУП

Регенерація печінки – це складний процес, який відіграє важливу роль у відновленні органу після пошкодження. Однак, печінка також є особливо вразливою до токсичних ушкоджень, що можуть призвести до розвитку холестазу – стану, при якому відбувається затримка або зупинка відділення жовчі [11].

Токсичне ураження печінки ацетамінофеном є однією з найпоширеніших причин гострої печінкової недостатності у світі. Токсичне ураження може призвести до розвитку серйозних ускладнень, включаючи холестаз.

Сучасна медицина стикається з рядом викликів, пов'язаних з різними видами уражень печінки. Медикаментозні, токсичні ураження печінки є одними з найпоширеніших факторів, що призводять до патологічних змін у печінці [1, 2, 3]. Ацетамінофен – це один з найдоступніших анальгетиків та антипіретиків, який використовується в клінічній практиці. Проте його надмірне вживання може призвести до токсичного ураження печінки [9].

Холестаз як одне з ускладнень регенераційного процесу є актуальним об'єктом дослідження, оскільки він може впливати на ефективність регенерації печінки. Він може бути виявлений за допомогою різних біохімічних маркерів, включаючи рівень білірубину в крові, та за активністю лужної фосфатази та гама-глутамілтрансферази [31].

Тому метою даної роботи стало дослідження біохімічних маркерів розвитку холестазу в щурів із токсичним ураженням печінки після часткової гепатектомії.

Для досягнення мети за даних експериментальних умов були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити активність ГГТ та ЛФ сироватці крові щурів;
2. Оцінити вміст загального білірубину та його фракцій в сироватці крові щурів.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Біохімічні механізми токсичного ураження печінки

Печінка відіграє важливу роль у біотрансформації терапевтичних засобів з організму. Зважаючи на її бар'єрну функцію між шлунково-кишковим трактом і системою крові, вона постійно піддається впливу ксенобіотиків, що потрапляють у порталний кровоплин. Ліки спричиняють пряме пошкодження гепатоцитів, жовчних проток, судинних структур або можуть перешкоджати відтоку жовчі. Фенотипи, які зазвичай зустрічаються, включають гепатит, холестаза, стеатоз, цироз печінки, судинні та неопластичні ураження і навіть фульмінантну печінкову недостатність [1].

Лікарські препарати та інші ксенобіотики іноді можуть викликати ураження печінки у вразливих людей. Цей тип побічної реакції, спрямованої на печінку, називається медикаментозним ураженням печінки і може призвести до госпіталізації та навіть небезпечної для життя печінкової недостатності, смерті або необхідності трансплантації печінки. Зазвичай токсичне ураження печінки проявляється у вигляді гострого гепатиту, вірусоподібного синдрому або гострого холестазу, в деяких випадках фенотип і патологічні прояви відповідають хронічному захворюванню печінки на момент встановлення діагнозу. До них належать жирова дистрофія печінки, хронічний гепатит, вузлова регенеративна гіперплазія, цироз печінки та пухлини. Окрім того, основна маса пацієнтів, які перенесли медикаментозне ураження печінки, повністю відновлюються після ураження печінки з нормалізацією показників печінкових проб. Проте в рідкісних випадках можуть залишатись біохімічні та/або гістологічні ознаки стійкого пошкодження печінки [2].

Існує безліч терапевтичних медикаментозних засобів, що спричиняють токсичне ураження печінки, включаючи нестероїдні протизапальні препарати, протиінфекційні препарати (протитуберкульозні препарати), протипухлинні препарати, гормональні препарати, імунодепресанти, седативні та нейропсихіатричні препарати. Найпоширенішим препаратом, який причетний

до медикаментозного ураження печінки, є ацетамінофен. Антибіотики — це клас препаратів, які найчастіше викликають токсичність печінки, і амоксицилін-клавуланат виділяється як найпоширеніший препарат у цьому класі. Крім того, трав'яні добавки викликають різноманітні симптоми, але їх використання залишається недостатньо вивченим [3].

Медикаментозне ураження печінки можна класифікувати на дві основні категорії відповідно до характеру пошкодження печінки (тобто гепатоцелюлярні або холестатичні). Їх комбінацією є змішане гепатоцелюлярно-холестатичне ушкодження. Також можуть спостерігатися інші, такі як стеатоз та/або стеатогепатит, гранулематозний гепатит, пошкодження печінкових судин, цитоплазматичні включення, ліпідоз, відкладення пігменту та утворення пухлини. Характер пошкодження тканин може допомогти патологоанатому звузити диференціальний діагноз і запропонувати найбільш ймовірний препарат, що уразив орган. Наприклад, централобулярний некроз з незначним запаленням або без нього може свідчити про наявність ацетамінофену, галотану та інших галогенованих анестетиків [4].

Загально визнано, що медикаментозне ураження печінки опосередковується двома основними механізмами: внутрішньою та ідіосинкратичною гепатотоксичністю. Внутрішні гепатотоксини спричиняють гепатоцелюлярне пошкодження передбачуваним дозозалежним чином безпосередньо препаратом або опосередковано його метаболітом. Деякі препарати, такі як ацетамінофен, викликають внутрішню гепатотоксичність, але більшість агентів цієї категорії є промисловими, побутовими або екологічними токсинами, такими як чотирихлористий вуглець і алкалоїди в грибах [5].

Більшість препаратів призводять до ідіосинкратичного ураження печінки і можуть бути класифіковані за метаболічними та імунологічними категоріями. У першому випадку препарат метаболізується в токсичний метаболіт у схильних до цього осіб, тоді як другий схожий на «лікарську

алергію» або гіперчутливість після сенсibiliзації до препарату. Загалом внутрішня гепатотоксичність проявляється гепатоцелюлярним некрозом з незначним запаленням, тоді як ідіосинкратичні реакції на лікарські засоби часто свідчать про домінантне ураження печінки із запаленням [5].

Внутрішній (прямий або передбачуваний) тип пов'язаний з дозою і виникає незабаром після контакту (від декількох годин до декількох днів) у більшості осіб, які зазнали впливу препарату, який є токсичним при даному пороговому рівні. Внутрішнє ураження печінки зазвичай йде по шляху прямого токсичного стресу, що призводить до клітинної загибелі гепатоцитів (іноді основною мішенню є синусоїдальні ендотеліальні клітини), який опосередкований реактивним метаболітом або основним препаратом, що втручається в певні функції клітини. Ця токсичність може бути опосередкована підвищеним оксидативним стресом, мітохондріальною дисфункцією, стресом ендоплазматичного ретикулуму або пошкодженням ДНК. У міру того, як ці процеси протікають безконтрольно, відбувається загибель клітин [6].

У свою чергу, ідіосинкратичне медикаментозне ураження печінки зазвичай має непередбачуваний перебіг зі змінною латентністю початку від кількох тижнів до місяців. У ідіосинкратичного медикаментозного ураження печінки відсутня чітка дозозалежність. Тим не менш, нещодавні дослідження показують, що потрібно мінімум 50-100 мг на день шкідливого препарату. Ідіосинкратичне медикаментозне ураження печінки, має широкий спектр клінічних картин, включаючи гострий або хронічний холестаза, гепатит або навіть печінкову недостатність [7].

У клінічних умовах біохімічні аналізи печінки використовуються для визначення пошкодження печінки, і медикаментозне ураження печінки не є винятком. Однак, оскільки дискретне підвищення рівня амінотрансфераз спостерігається при поширених захворюваннях, таких як неалкогольна жирова дистрофія печінки, і враховуючи, що деякі препарати викликають транзиторні та незначні зміни в печінкових пробах, консенсусна група запропонувала

наступні критерії як обов'язкову умову для розгляду випадку як медикаментозного ураження печінки: значення аланінамінотрансферази (АЛТ) ≥ 5 разів більше верхньої межі норми (ВМН); значення лужної фосфатази (ЛФ) ≥ 2 рази ВМН, або значення АЛТ ≥ 3 рази ВМН та загальний білірубін (ТБ) > 2 рази ВМН. Відповідно, фенотипи ураження печінки визначаються і біохімічними критеріями. Характер пошкодження встановлюється за допомогою значення R, де: $R = (\text{пацієнт з АЛТ/ВМН}) / (\text{пацієнт з ЛФ/ВМН})$ [8].

Отримана закономірність класифікує випадки як гепатоцелюлярні ($R \geq 5$), холестатичні ($R \leq 2$) та змішані ($R > 2$ та < 5). Як зазначив іспанський реєстр медикаментозних уражень печінки, характер пошкодження печінки може змінюватися з часом, а значення R має тенденцію зменшуватися під час прогресування захворювання. Тому, щоб уникнути неправильної класифікації, рекомендується, щоб першим доступним тестом після виявлення медикаментозного ураження печінки був тест для визначення характеру пошкодження [8].

1.1.1. Ацетамінофен як гепатотоксин

Ацетамінофен, також званий парацетамолом, є одним із найбільш широко використовуваних знеболювальних та жарознижувальних безрецептурних препаратів у світі. Існує ефективний антидот парацетамолу N-ацетилцистеїн; однак, незважаючи на це, токсичність парацетамолу все ще є основною причиною гострої печінкової недостатності у більшості країн з високим рівнем доходу. Важкі випадки можуть вимагати трансплантації печінки або призвести до смерті [9].

Основним токсичним ефектом парацетамолу є гепатотоксичність. Парацетамол є «проотрутою», яка чинить свою токсичну дію через токсичний реактивний метаболіт N-ацетил-p-бензохінонімін (N-acetyl-p-benzoquinone imine, NAPQI). Цей метаболіт утворений ферментами цитохрому P-450 (CYP), насамперед CYP2E1 та CYP3A4. NAPQI утворюється в невеликих кількостях

при надходженні терапевтичних доз, де він легко детоксикується шляхом кон'югації з глутатіоном. При передозуванні ацетамінофеном глутатіону може бути недостатньо для детоксикації NAPQI, що призводить до його зв'язування з клітинними білками (утворення адуктів). NAPQI в основному зв'язується із залишками цистеїну, але потенційно також може пошкоджувати білки через залишки метіоніну, триптофану та тирозину. Мітохондрії є ключовою мішенню для утворення адуктів NAPQI. Утворення активних форм кисню спричиняє окислювальний стрес і призводить до активації c-jun N-кінцевої кінази (JNK). Фермент JNK транслокується в мітохондрії, що призводить до мітохондріальної дисфункції, припинення утворення АТФ і розриву мембрани мітохондрій, і як наслідок клітинного некрозу. Роль мітохондрій у гепатотоксичності парацетамолу була достатньо досліджена. Тяжке ураження печінки призводить до втрати синтетичної функції печінки, коагулопатії та гіпоглікемії. Втрата метаболічних функцій печінки призводить до енцефалопатії та лактоацидозу [10].

Отже основним прикладом внутрішньої медикаментозного ураження печінки є гепатотоксичність ацетамінофену, на яку припадає ~50% випадків гострої печінкової недостатності у США та деяких європейських країнах. Цікаво, що у значної частини пацієнтів гепатотоксичність парацетамолу виникає неавмисно при дозах, які трохи перевищують максимальну рекомендовану добову дозу в 4 г, що було названо «терапевтичною невдачею». Примітно також, що у здорових добровольців підвищення аланінамінотрансферази (АЛТ) часто відбувається при повторних високих терапевтичних дозах. Передбачається, що ряд факторів, включаючи голодування, зловживання алкоголем, одночасний прийом інших ліків та супутні захворювання можуть знизити поріг токсичної дії парацетамолу [6].

1.2. Особливості регенерації печінки

Моделі, що використовуються для вивчення регенерації печінки, можна згрупувати у дві основні категорії — хірургічна резекція або часткова

гепатектомія (ЧГ) та моделі хімічного пошкодження. Традиційно модель ЧГ залишається популярною з тих пір, як Хіггінс і Андерсон описали її в 1930-х роках. У моделі ЧГ приблизно 60-70% печінки видаляють хірургічним шляхом, а печінці, що залишилася, дають час, щоб відновитися. Процес регенерації печінки у гризунів триває приблизно 14 діб після ЧГ. Часткова гепатектомія виявляється надійною моделлю для вивчення регенерації з мінімальним пошкодженням печінки, синхронізованим клітинним циклом і дуже високою відтворюваністю.

Моделі хімічної травми, хоча і традиційно теж використовуються, залишаються відносно менш поширеними, проте набули певної популярності в останнє десятиліття. Використані різноманітні хімічні речовини, які, як відомо, індукують загибель клітин у печінці, що призводить до подальшої компенсаторної регенерації печінки, включаючи Тетрахлорометан (CCl_4), тіоацетамід, ацетамінофен, хлороформ, галактозамін, аліловий спирт, діетилнітрозамін та бромбензол. За винятком алілового спирту, більшість інших хімічних речовин є централобулярними гепатотоксикантами та субстратами для CYP2E1. З цих хімічних речовин CCl_4 , тіоацетамід та ацетамінофен, ймовірно, є найбільш часто використовуваними хімічними речовинами для вивчення циклу пошкодження та регенерації печінки. Більшість дослідників вивчають регенерацію печінки після введення одноразової токсичної дози хімічної речовини. Були проведені дослідження регенерації печінки при хронічному лікуванні такими хімічними речовинами, як CCl_4 і тіоацетамід, але в центрі уваги цих досліджень залишається фіброз печінки і процеси пошкодження в патогенезі фіброзу.

Моделі хімічної травми є складнішими, ніж ЧГ, через невід'ємні проблеми, що виникають при відокремленні механізмів пошкодження від механізмів регенерації, відносно вищу варіацію від тварини до тварини, значне запалення та залежність від дози пошкодження та реакцій регенерації. Окрім моделей ЧГ та гострого хімічного пошкодження, деякі дослідники вивчали регенерацію печінки за допомогою нетрадиційних моделей, таких як

ішемія/реперфузійне пошкодження. Однак більшість достовірних механістичних даних про регенерацію печінки було отримано з моделей часткової гепатектомії та гострої токсичної травми (особливо CCl_4 , тіоацетамід та ацетамінофен)

Гризуни залишаються видом вибору для вивчення регенерації печінки з використанням як ЧГ, так і моделей хімічних пошкоджень. Спочатку щур був найпопулярнішим видом, який використовувався з 1950 до початку 1990-х років. З появою нокаутних і трансгенних технологій, миша стала улюбленим видом в кінці 1990-х років, а зараз замінила щура через очевидні переваги, що забезпечуються прогресом в області генної інженерії [11].

1.3. Особливості розвитку холестазу при медикаментозному ураженні печінки

Холестаз – це стійке захворювання печінки, яке визначається зменшенням потоку жовчі, що досягає дванадцятипалої кишки, або внаслідок механічного порушення, що перешкоджає транзиту жовчі (обструктивний холестаз), або через функціональні зміни здатності гепатоцитів генерувати жовч (гепатоцелюлярний або функціональний холестаз). Подальша внутрішньоклітинна затримка токсичних компонентів жовчі індукує пошкодження паренхіми, головним чином за допомогою механізмів, опосередкованих окислювальним стресом. Гепатоцити і холангіоцити є основними мішенями пошкодження при холестазі. Від тяжкості захворювання, пошкодження можна диференціювати залежно від основного типу клітин. Гепатоцелюлярне пошкодження призводить до запалення, фіброзу та порушення функції печінки, однак, коли пошкодження є холангіоцелюлярним, прояви захворювання різні, що призводить до добре диференційованої холангіопатії [12].

Холангіопатії – це група захворювань печінки, що характеризуються безпосереднім пошкодженням біліарного епітелію, в основному пов'язаних із запальною реакцією, таких як первинний склерозуючий холангіт, первинний

біліарний холангіт, атрезія жовчовивідних шляхів, муковісцидоз, медикаментозні холангіопатії та ін. Холангіопатії є основними захворюваннями, які вирішуються трансплантацією печінки. Проліферація холангіоцитів має фундаментальне значення при хронічному холестази для підтримки гомеостазу та структури біліарної системи, і збій у цьому компенсаторному механізмі пов'язаний з ініціацією та погіршенням різноманітних захворювань жовчовивідних шляхів, таких як холестаз, первинний склерозуючий холангіт, біліарний фіброз, первинний біліарний холангіт та ін [12].

Холестатичне захворювання печінки, спричинене ліками, — це підтип ураження печінки, який характеризується переважним підвищенням лужної фосфатази та білірубіну внаслідок введення гепатотоксичного засобу. Залежно від збудника та механізму ураження він може проявлятися як холестатичний гепатит або як легкий холестаз. Ліки, які зазвичай викликають холестаз при гепатиті, включають психотропні агенти, антибіотики та нестероїдні протизапальні засоби. Окремі препарати, що індукують медикаментозний холестаз, як правило, мають характерну сигнатуру, яка складається з клінічної та патологічної картини, але один препарат може демонструвати більше однієї специфічної сигнатури. Холестатичні реакції, інколи, тривають навіть після припинення застосування препарату, імовірно, тому, що репарація та регенерація холангіоцитів відбувається повільніше, ніж у гепатоцита, а також тому, що секреторна функція жовчі може відновлюватися повільніше, ніж інші функції гепатоцитів. У деяких випадках персистенція імунної відповіді, що саморозповсюджується, може відігравати певну роль у подовженні медикаментозного холестази. Препарати, що спричиняють тривалий холестаз (тривалість якого перевищує 3 місяці) та дукопенію, включають антибіотики, такі як амоксицилін-клавуланова кислота та флуклоксацилін, протигрибкові засоби, такі як тербінафін, і, рідко, пероральні контрацептиви. Амідарон також може спричинити тривале холестатичне захворювання [1].

Медикаментозне гостре холестатичне ураження можна розділити на два підтипи: м'який (чистий) холестази і гострий холестатичний гепатит (змішане гепатоцелюлярно-холестатичне ушкодження). М'який холестази характеризується наявністю вираженого гепатоцелюлярного та/або каналікулярного холестазу з незначним запаленням або без нього та гепатоцелюлярного пошкодження. Пошкодження жовчних проток може спостерігатися, але не означає прогресування до протокопенічного хронічного холестазу. Типовими прикладами препаратів, що викликають м'який холестази, є анаболіки та пероральні контрацептивні стероїди [4].

Розуміння патофізіології гепатоцелюлярного типу ураження печінки невелике, тоді як прогрес у розумінні патогенезу холестатичного захворювання печінки в останні роки дещо зріс. З'ясувалося, що лікарські засоби або метаболіти препаратів у багатьох випадках втручаються в гепатобілярні транспортні системи, що знаходяться на базолатеральних і каналікулярних мембранах гепатоцитів [13]. Біотрансформація препаратів в печінці відбувається в реакціях I і II фази. Найбільш поширені ферменти, що метаболізують препарати I фази, представлені надродиною CYP450. Під час метаболізму препарату у фазі II метаболіти шляхів фази I ферментативно кон'югуються з гідрофільними ендogenousними сполуками, такими як глутатіон. Детоксикаційна здатність печінки в основному пояснюється гепатоцитами, хоча препарати виводяться з жовчю, піддаючи холангіоцити впливу високих концентрацій потенційно реактивних сполук. Холангіоцити, виділені з печінки щурів, не мають CYP 450 і мають низьку концентрацію захисного глутатіону, що робить їх особливо сприйнятливими до медикаментозного пошкодження [14].

У пацієнтів з медикаментозним ураженням печінки, у яких розвивається гостре холестатичне ураження, може виникати тяжкий, тривалий холестази і тоді проявляються дві можливі моделі ураження печінки. Перша картина – це втрата жовчних проток, що призводить до синдрому зникаючих жовчних проток з характерними змінами при біопсії печінки (характеризується втратою

жовчних проток >50% через запальну реакцію та некроз внутрішньодолькового епітелію жовчних проток), тоді як друга картина – це вторинна холангітоподібна картина (вторинний склерозуючий холангіт), яка виявляється на візуалізації жовчовивідних шляхів, такий як магнітно-резонансна холангіопанкреатографія . При огляді літератури неясно, чи є ці дві моделі пошкодження печінки унікальними фенотипами холестатичного пошкодження печінки, чи вони можуть співіснувати або прогресувати від одного до іншого [15].

Лікування пошкодження жовчних проток під впливом лікарських препаратів в першу чергу залежить від раннього розпізнавання та негайної відміни пошкоджуючого агента. Слід бути обережним, щоб уникнути ненавмисного повторного ускладнення. Контроль симптомів є основою лікування. Урсодезоксихолева кислота (УДХК) може бути використана при холестатичному медикаметозному ураженні печінки, як і при багатьох інших холестатичних захворюваннях, враховуючи її захист від цитотоксичності, спричиненої токсичними солями жовчних кислот, стимуляцію гепатобілярної секреції, антиоксидантну активність, підвищення рівня глутатіону, а також інгібування апоптозу клітин печінки та сприяння виживанню гепатоцитів шляхом активації рецептора епідермального фактора росту. У звіті про клінічний випадок зазначено про покращення при медикаментозному пошкодженні жовчних проток за допомогою тривалої імуносупресії при застосуванні низьких доз мікофенолату мофетилу. Повідомлялося про успіх у лікуванні лікарсько-індукованих холангіопатій, які не реагували на УДХК, за допомогою плазмафорезу та метилпреднізолону. Лікування свербіжів на фоні тяжкого холестази включає застосування холестираміну, антигістамінних препаратів, рифампіцину, фенобарбіталу та опіоїдних аналогів[14].

Обетихолева кислота, 6 α -етилілове похідне хенодезоксихолевої кислоти природньої жовчевої кислоти людини, є першим у своєму класі селективним агоністом фарнезоїдного X рецептора, який приблизно в 100 разів сильніший за хенодезоксихолеву кислоту. Обетихолева кислота є потенційним

терапевтичним засобом для неалкогольної жирової хвороби печінки, а також холестатичних захворювань. Первинні гепатоцити при обробці обетихолевою кислотою демонструють підвищену життєздатність і секрецію фактору росту фібробластів 19 (FGF19) у культурах. Також було показано, що обетихолева кислота пригнічує спричинену метаболічним стресом активацію p53 (білок регулятор клітинного циклу) і загибель гепатоцитів. Було також синтезовано декілька нових синтетичних сполук, які активують передачу сигналу TGR5. Терапія на основі TGR5 актуальна для проліферації холангіоцитів [16].

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти та методи досліджень

Для проведення цього дослідження використовували білих безпородних щурів вагою від 110 до 130 г і віком від 2,5 до 3 місяців. Протягом експерименту тварин утримували в пластикових клітках із вільним доступом до питної води та з піщаною підстилкою. Щурі знаходились на стандартному раціоні віварію.

Операції на тваринах проводили відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», прийнятих на 7-й Національній конференції з біоетики та відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей».

Моделювання гострого токсичного ураження проводили шляхом перорального введення дослідним тваринам у вигляді суспензії парацетамолу в 2% розчині крохмального гелю в кількості 1250 мг/кг маси тіла тварини. Такі маніпуляції проводились 1 раз на день впродовж 2-х діб. Здійснення часткової гепатектомії, яка базувалась на резекції двох третин тканини печінки. ЧГ на щурах було виконано під анестезією.

У ході проведення експерименту тварин поділили на дві групи:

- 1 – здорові щури, яким проводили лише часткову гепатектомію
- 2 – щури, яким моделювали токсичне ураження, після часткової гепатектомії.
(ТУ/ЧГ)

Оцінку біохімічних показників здійснювали через 24 (фаза праймінгу), 48 (період активної проліферації клітин), 72 (фаза термінації) та 168 годин (віддалений період) після проведення часткової резекції печінки.

2.2. Отримання сироватки крові

Для отримання сироватки крові, кров у щурів забирали з печінкової вени і переносили в центрифужні пробірки. Після цього для кращої ретракції тромба пробірки з кров'ю витримували 30 хвилин при температурі 37°. Надалі

сироватку відокремлювали шляхом центрифугування зразків при 3000 об/хв 15 хвилин. Готову сироватку відразу ж використовують для аналізу.

2.3. Робота на біохімічному аналізаторі НТІ Biochem FC-120

Дослідження зразків, проводили на автоматичному біохімічному аналізаторі НТІ Biochem FC-120 (США). На базі кафедри біохімії та біотехнологій. Першим етапом початку роботи з аналізатором було увімкнення джерела безперебійного живлення. Після того як аналізатор був приєднаний до мережі, його увімкнули кнопкою на бічній панелі приладу. Коли прилад запустили, то програмне забезпечення Biochem FC-120 почало працювати автономно, і система відкрила вікно вибору користувача. Надалі потрібно було вибрати ім'я користувача, на клавіатурі ввести пароль, а потім, щоб увійти в систему користувача – натиснути кнопку «ЛОГІН». Після входу система автоматично налаштувалась та ініціалізувалась. Перед тим як почати роботу нами було перевірено розміщення та наповнення ємності з дистильованою водою. Також ми приділили увагу тому, щоб трубка для забору дистилляту була не заблокована, не зігнута і не перекручена. Надалі зробили заміну сегментів кювет з 1 по 9 . Після кожної заміни натиснули кнопку «ОК». Після заміни кювет провели стабілізацію лампи і розпочали тест лише тоді, коли у верхній частині екрану відобразилось «ГОТОВО». Після проведених маніпуляцій у аналізатор встановили диск з реагентами, який перед тим дістали з холодильника та дали постояти при кімнатній температурі 20 хвилин. Для правильного встановлення диска з реагентами, потрібно тримати вертикально ручку, вирівняти маркер в центрі диска з маркером на роторі та опустити диск з реагентами до упору. Реактив прямого білірубіну, який зберігався при кімнатній температурі встановлюємо у правильне положення на диску окремо. Далі в мікропробірки у відповідні положення на диску внесли 300 мікролітрів сироватки крові, яку перед початком роботи вийняли з морозильної камери. Коли сироватка була внесена потрібно перейти до екрану аналізатора та натиснути стилусом кнопку «ЗАПРОС» у головному меню, щоб

відкрити вікно «ПАРАМЕТРИ» зразка. Далі виставляються необхідні параметри: Диск зразків → Диск 1 та вказується позиція зразка: позиція → 1. Надалі вказується тип зразка: «ЗВИЧАЙНИЙ», і ставимо галочку (•). Вказуємо тип проби: сироватка. Вибираємо тести, які потрібно виконувати: ЛФ, ГГТ, прямий білірубін та загальний білірубін, і натискаємо кнопку «ЗБЕРЕГТИ». Аналогічні операції проводились і для інших зразків сироватки крові. Натиснули клавішу «СТАТУС» для перегляду кожної тестової пробірки, кювет, флаконів із реагентами. Потім натиснули «СТАРТ», вибрали сортування «За тестами», видалили відмітку «Перевірити рівень реагентів» після чого натиснули «ТАК». Прилад розпочав роботу, а у верхньому полі вікна було зазначено час аналізу зразків. Коли тестування дослідних зразків завершилось, на головному екрані вибрали клавішу «РЕЗУЛЬТАТИ» та роздрукували отримані дані.

2.4. Визначення вмісту загального, прямого і непрямого білірубіну

Принцип методу вимірювання загального білірубіну базується на здатності діазотованої сульфанілової кислоти утворювати азобілірубін, що має максимум поглинання при 560 нм у розчині диметилсульфоксиду. У свою чергу принцип методу визначення прямого білірубіну базується на здатності діазотованої сульфанілової кислоти утворювати азобілірубін, що має максимум поглинання при 560 нм у водному розчині. Інтенсивність забарвлення зразка була прямо пропорційна концентрації загального та прямого білірубіну присутнього у сироватці крові. Визначення непрямого білірубіну проводилось шляхом знаходження різниці між вмістом загального білірубіну та прямого.

2.5. Визначення активності лужної фосфатази

Визначення активності лужної фосфатази проводять за фотокінетичною пробою. Принцип методу визначення активності ґрунтується на тому, що ензим каталізує перенесення фосфатної групи з *n*-нітрофенілфосфату до 2-

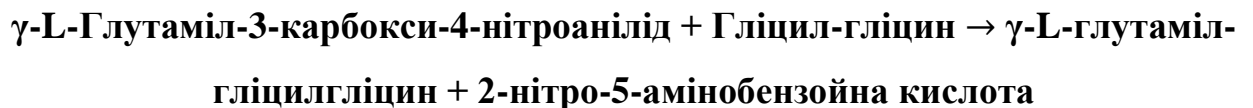
аміно-2метил-1-пропанолу (AMP), при цьому вивільняється *n*-нітрофенол відповідно до поданої реакції:



Виміряна фотометрично швидкість утворення *n*-нітрофенолу, буде пропорційна ферментативній активності лужної фосфатази.

2.6. Визначення активності гамма-глутамілтрансферази

Принцип методу визначення ГГТ визначається тим, що фермент прискорює перенесення γ -глутаміл від γ -глутаміл-*p*-нітроаніліда до гліцил-гліцину відповідно до рівнянь реакції:



Відповідно швидкість утворення 2-нітро-5-амінобензойної кислоти, виміряної фотометрично, дорівнює пропорційній концентрації ГГТ у досліджуваному зразку.

Статистична обробка даних

Обробка результатів експериментального дослідження проводилась на персональному комп'ютері за допомогою пакетів аналізу табличного редактора «Microsoft Office Excel». У табличному редакторі проводились розрахунки середнього значення показників за яким складались графіки. Показник достовірності (P) був визначений за допомогою методу варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента (t). Різниці вважались достовірними якщо $P \leq 0,05$.

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Холестатичні захворювання печінки – це група станів, що характеризуються жовтяницею та холестазом як основною клінічною картиною, з кількома іншими ускладненнями, включаючи цироз, варикозну кровотечу, портальну гіпертензію тощо. Холестаза характеризується підвищенням рівня лужної фосфатази (ЛФ) або гамма-глутамілтрансферази (ГГТ), зі зменшенням відтоку жовчі і підвищенням незв'язаного білірубіну, що може статися пізніше [17].

Холестатичні розлади в широкому сенсі визначаються як внутрішньо- або позапечінкові. Внутрішньопечінковий холестаза зумовлений дефектами жовчних каналців, гепатоцелюлярної системи або внутрішньопечінкових жовчних проток. На внутрішньопечінкового, причини позапечінкового холестазу впливають на позапечінкові протоки, загальну печінкову протоку або загальну жовчну протоку. Деякі етіології холестазу, такі як первинний склерозуючий холангіт, можуть вражати як внутрішньопечінкові, так і позапечінкові жовчні протоки. Примітно, що деякі причини гострого холестазу, такі як холестаза, пов'язаний з повним парентеральним харчуванням, або медикаментозним ураженням печінки, мають потенціал до хронізації. Хронічний холестаза збільшує ризик ряду ускладнень, які можуть підвищити захворюваність і смертність, пов'язані з основним захворюванням. Холестаза погіршує всмоктування жиророзчинних вітамінів і, отже, призводить до метаболічних захворювань кісток. Первинний біліарний холангіт пов'язаний з гіперліпідемією і шкірними відкладеннями ліпідів, які проявляються у вигляді ксантом і ксантелазм. Якщо холестатична хвороба печінки прогресує до цирозу, у пацієнтів можуть спостерігатися наслідки портальної гіпертензії, включаючи асцит, павукоподібні ангіомати та гінекомастію [18].

Медикаментозне ураження печінки нині є значущою проблемою наукових дискусій серед дослідників. Розпізнавання такого ураження може бути досить складним, оскільки цей діагноз є часто виключеним, його клінічні прояви варіабельні, доступних даних щодо факторів ризику мало, а

стандартизованого діагностичного тестування для цього стану не існує. У випадку медикаментозного ураження існує кілька моделей підвищення рівня печінкових ферментів. Медикаментозний холестаза можна визначити як підвищення рівня лужної фосфатази більш ніж у 1,5 рази вище верхньої межі норми (ВМН) та/або співвідношення аланінамінотрансферази (АЛТ)/ЛФ менш ніж 2,3. Крім того прояви холестаза виявляють за підвищенням рівня гамма-глутамінтрансферази та білірубину [19].

Результати проведених нами досліджень показали, що підвищення рівня лужної фосфатази в сироватці крові здорових щурів яким проводили ЧГ, спостерігається впродовж 48 годин після часткової резекції органу та відновлюється до значень контролю уже в період термінації. Водночас у щурів із токсичним ураженням після часткової гепатектомії зростання рівня даного ензиму відбувається впродовж всього експериментального періоду. Варто наголосити, що максимальні значення даного показника у групі ТУ/ЧГ зареєстровані на 72 та 168 год (рис. 3.1).

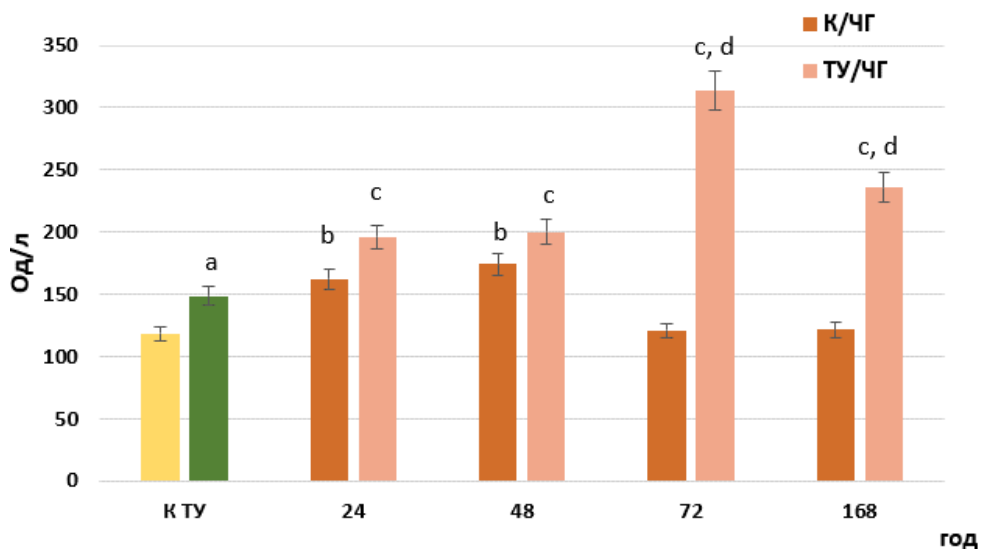


Рис. 3.1. Активність лужної фосфатази в сироватці крові щурів за умов часткової гепатектомії

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

Лужна фосфатаза (ЛФ; КФ 3.1.3.1) охоплює групу гетерогенних ферментів, які каталізують гідроліз монофосфатних ефірів при лужному рН. Активність лужної лужності в сироватці крові використовується в основному як індикатор печінкових захворювань. Однак існують численні непечінкові фактори, які призводять до підвищення активності лужної фосфатази в сироватці крові. На профіль ізоформ ЛФ у сироватці крові також впливає багато факторів, включаючи вік, медикаментозна терапія, ендокринні захворювання, неоплазія тощо. Активність лужної фосфатази можна виміряти в будь-якій тканині, але в діагностичних цілях її зазвичай вимірюють у сироватці крові [20].

У сироватці крові пацієнтів із захворюваннями печінки, зокрема холестазом, виявляють лише печінкову ЛФ. Помірне підвищення рівня ферменту може спостерігатися при всіх типах порушень печінки. Значні підвищення (більш ніж в два-три рази) в основному спостерігаються при захворюваннях, пов'язаних з внутрішньо- або позапечінковим холестазом. Ступінь елевації не розрізняє внутрішній і позапечінковий холестаза [21].

Багато патологічних станів пов'язані з підвищеною активністю ЛФ в сироватці крові. Цікаво і важливо для клінічної практики те, що високі концентрації імуноглобулінів можуть помітно посилювати активність лужної фосфатази в сироватці крові. Було навіть висунуто гіпотезу, що підвищена активність ферменту у сироватці крові при багатьох запальних станах може служити захисним засобом для придушення системного запалення. При захворюваннях печінки помітне підвищення активності ЛФ у сироватці крові є ознакою холестатичних станів. При холестази підвищена активність лужної фосфатази у сироватці крові в основному пов'язана зі збільшенням печінкового синтезу та подальшим вивільненням печінкової лужної фосфатази у синусоїдальний кровоплин. У нелікованих пацієнтів з первинним біліарним цирозом печінки емблематична запальна холангіопатія, концентрація жовчевих кислот в сироватці крові та активність ЛФ лінійно пов'язані, тим самим підтверджуючи, що знижена канална секреція та

гепатоцелюлярна затримка жовчевих кислот збільшують синтез печінкової лужної фосфатази та/або її вивільнення в кровоплин, а не в жовч [21]. Таким чином, активність сироваткової ЛФ є сурогатним маркером затримки жовчевих кислот, що в нашому випадку буде, ймовірно, відбуватися у групі тварин ТУ/ЧГ.

Ще одним важливим маркером ураження плазматичних мембран клітин печінки та порушення відтоку жовчі є гамма-глутамілтрансфераза.

За результатами проведених досліджень встановлено підвищення рівня активності гамма-глутамілтрансферази у групі інтактних щурів, яким здійснювали часткову резекцію тканини печінки, лише протягом 48 годин. Після чого активність даного ензиму, починаючи з фази термінації (72 год), знижується до рівня контролю. Натомість у щурів з токсичним ураженням після часткової резекції печінки зростання активності ферменту спостерігається протягом всього експерименту і підтримується на однаково високому рівні (рис. 3.2).

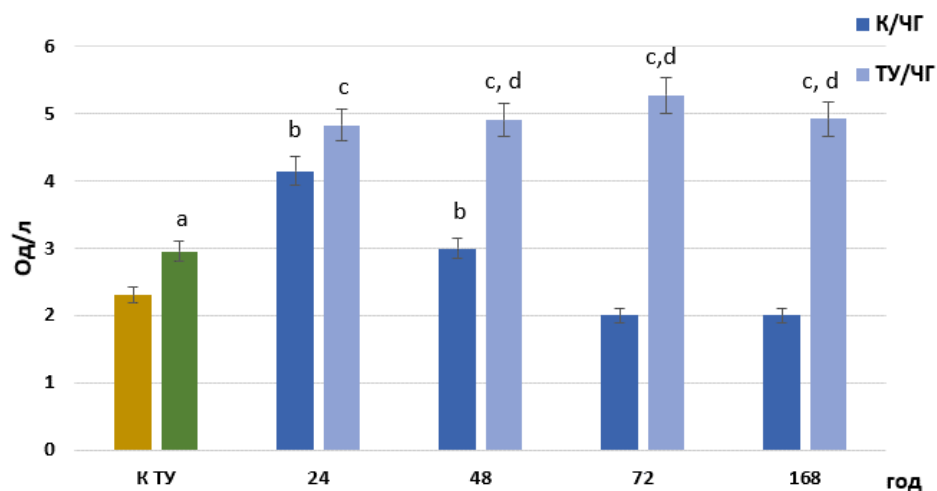


Рис. 3.2. Активність гамма-глутамілтрансферази в сироватці крові щурів за умов часткової гепатектомії

Гамма-глутамілтрансфераза (γ GT) (КФ 2.3.2.2.) – фермент який каталізує перенесення гамма-глутамільної групи на акцепторні пептиди та L-амінокислоти, зокрема цистеїн. γ GT експресується в тканинах і різних типах

клітин людини, за винятком міоцитів, і з деякою варіабельністю в профілях експресії між типами клітин. Його найбільше на просвітних поверхнях клітин з секреторними або абсорбційними властивостями, але його також можна знайти на базолатеральних поверхнях ниркових епітеліальних клітин. Альтернативні гамма-глутамілові мішені включають субстрати γ GT1, включаючи глутатіондисульфід, лейкотрієн C₄ і S-нітрозоглутатіон і глутатіон-ксенобіотичні адукти. Таким чином, γ GT відіграє помітну роль у регенерації глутатіону, передачі сигналів запалення та гомеостазі оксиду азоту, а також у зменшенні окисного стресу [22].

Повідомляється, що γ GT є маркером захворювання жовчовивідних шляхів, частково через його зв'язок з лужною фосфатазою – іншим непрямим біохімічним маркером холестазу. Цей зв'язок продемонстрований Вітфілдом та його колегами у великій когорті пацієнтів із захворюваннями печінки та здоровими контрольними групами. Середня сироваткова активність γ GT та лужної фосфатази була вищою при захворюваннях жовчовивідних шляхів порівняно з паренхіматозною етіологією. При змішаних паренхіматозних та біліарних захворюваннях співвідношення середнього рівня γ GT до лужної фосфатази було приблизно еквівалентним. У цій когорті вони також відзначили, що підвищення γ GT у ході загального відновлення печінки часто знижується незалежно від того, чи має воно первинне біліарне або гепатоцитарне походження. Аналогічні результати згодом були опубліковані Кушієрі та Бейкером, згідно з якими пацієнти з позапечінковою обструкцією жовчовивідних шляхів мали значне підвищення рівня γ GT та ЛФ, яке зникало після видалення ураження. Вони відзначили помітну затримку в зниженні γ GT, особливо у випадках значної жовтяниці перед процедурою [22]. При нормальному відновленні печінки значення ГГТ зростають в перші години і поступово зменшуються з часом, але підвищуються при переважно застійному захворюванні печінки жовчю [23].

Отже, у здорових щурів, яким здійснювали часткову резекцію тканин печінки, лише на ранніх стадіях регенераційного процесу – фази праймінгу (24

год) та активної проліферації клітин (48 год) – спостерігається підвищення рівня лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази в сироватці крові. Водночас у тварин із токсичним ураженням зростання рівня ЛФ та ГГТ в сироватці крові відбувається впродовж всього періоду відновлення печінки з максимумом під час фази термінації та на завершальних етапах.

Досить часто розвиток холестатичного синдрому при вираженій гіперферментемії супроводжується зростанням рівня загального білірубину та порушенням співвідношення його фракцій.

Нами було встановлено зростання вмісту загального білірубину в сироватці крові щурів обох дослідних груп. Проте, у групі К/ЧГ зміни вмісту білірубину зареєстровані лише на 24 та 48 год експерименту, тоді як у тварин групи ТУ/ЧГ підвищення спостерігається впродовж 7 днів регенераційного процесу з максимумом в період праймінгу (24 год) та під час фази термінації (72 год) (рис. 3.3).

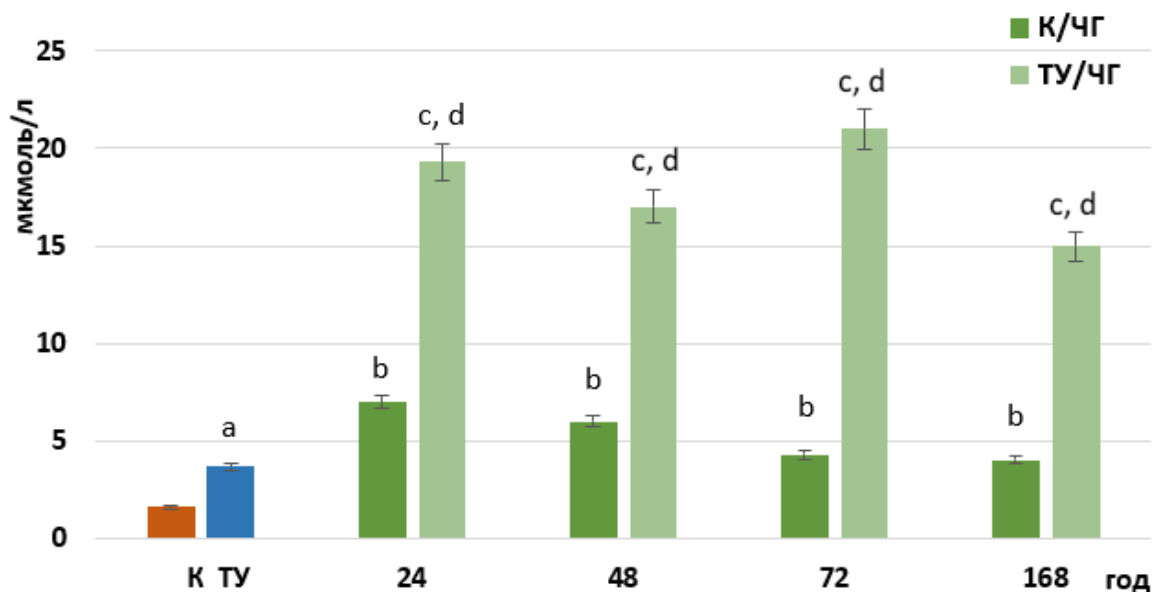


Рис. 3.3. Вміст загального білірубину в сироватці крові щурів за умов часткової гепатектомії

Білірубін є продуктом розпаду гему та частково інших гемовмісних білків в печінці та селезінці. Основним джерелом білірубину є гемоглобін

старіючих еритроцитів. У ретикулоендотеліальних клітинах гем перетворюється на тетрапіролбілівердин за допомогою ферменту гемоксигенази з подальшим відновленням до білірубину ферментом білівердинредуктазою. Потім білірубін вивільняється в плазму і транспортується в печінку, зв'язаний альбуміном, оскільки в цьому стані він нерозчинний у воді то він називається некон'югованим. У печінці некон'югований білірубін кон'югується до білірубину ферментом уридиндифосфатглюкуронілтрансферазою. Нарешті, кон'югований білірубін надходить в дванадцятипалу кишку з виділеною жовчю, а потім перетворюється в уробіліноїди – групу відновних похідних білірубину, з яких найбільш поширеними представниками є уробіліноген і стеркобіліноген [24].

У нормі концентрація загального білірубину в людей становить менше 1 мг/дл (дорівнює 17 ммоль/л), а фізіологічний діапазон зазвичай вказується як 0,1–1 мг/дл (2–17 ммоль/л). Однак через значну частку суб'єктів із синдромом Жильбера в загальній популяції (2–10%) розподіл концентрацій білірубину є бімодальним (отже, ненормальним), з медіаною концентрації білірубину близько 0,6 мг/дл (10 ммоль/л) [24].

Жовтяниця проявляється, коли концентрація білірубину в сироватці крові перевищує 3 мг/дл [25]. Білірубін у крові присутній у вигляді непрямого або прямого білірубін відповідно. У кон'югованому стані білірубін розчинний у воді. Некон'югований білірубін є токсичним через свою нерозчинність у воді він може легко накопичуватись в крові і проникати в клітини, порушуючи внутрішньоклітинний обмін речовин [26].

З отриманих нами результатів досліджень видно, що гіпербілірубінемія у щурів із токсичним ураженням ацетамінофеном, яким проводили часткову гепатектомію, впродовж всього регенеративного періоду характеризується різним співвідношенням кількісного вмісту прямого та непрямого білірубину. Щодо рівня прямого білірубину, то нами встановлено, що після часткової гепатектомії як в групі К/ЧГ, так і в тварин групи ТУ/ЧГ вміст прямого білірубину в сироватці крові зростає лише на 24 та 48 години регенераційного

процесу. Проте значення даного показника в групі щурів ТУ/ЧГ достовірно перевищують їх групі К/ЧГ (рис. 3.4).

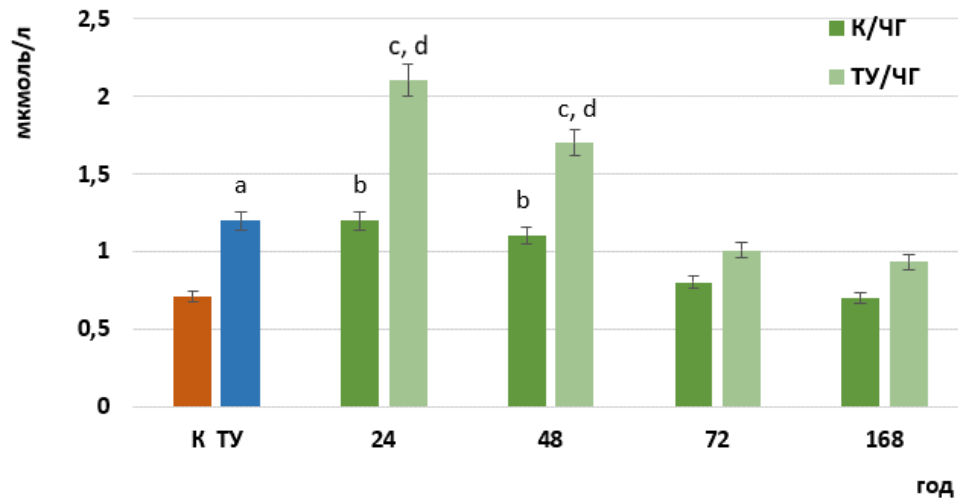


Рис. 3.4. Вміст кон'югованого білірубіну в сироватці крові щурів за умов часткової гепатектомії

Як видно з рисунку 3.4. встановлена нами виражена гіпербілірубінемія у тварин групи ТУ/ЧГ відбувається в основному за рахунок фракції непрямого білірубіну впродовж всього експериментального періоду. Максимальні значення даного показника зареєстровані в період праймінгу (24 година) та в період термінації (72 година).

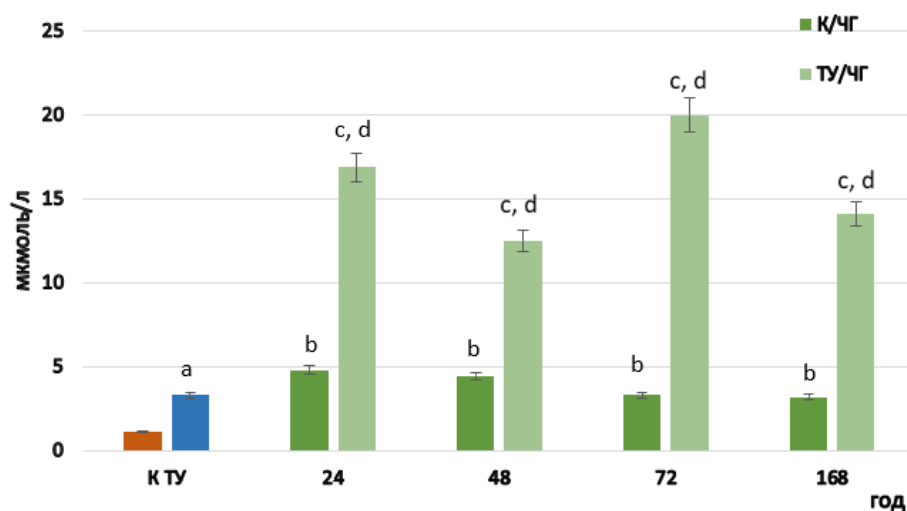


Рис. 3.5. Вміст некон'югованого білірубіну в сироватці крові щурів за умов часткової гепатектомії

Гіпербілірубінемію зручно класифікувати як некон'юговану (з непрямую реакцією) або кон'юговану (з прямою реакцією) гіпербілірубінемію. На практиці чиста кон'югована гіпербілірубінемія зустрічається рідко. У більшості випадків підвищений кон'югований білірубін у плазмі супроводжується підвищенням рівня некон'югованого білірубину, що призводить до змішаної гіпербілірубінемії. У цих умовах, оскільки рівень кон'югованого білірубину в плазмі крові відображає нирковий і печінковий кліренс кон'югатів білірубину, співвідношення кон'югованого та загального білірубину зазвичай не є корисним з діагностичної точки зору. Іншою корисною характеристикою є визначення того, чи є гіпербілірубінемія єдиною аномалією функції печінки, чи інші біохімічні тести печінки, такі як активність сироваткових лужної фосфатази або γ -глутамілтрансферази, також є відхиленими від норми. Відсутність відхилень від норми інших печінкових біохімічних тестів є однією з ознак, що дозволяє відрізнити сімейні гіпербілірубінемії від більшості набутих випадків гіпербілірубінемії [27].

Кілька механізмів можуть пояснити підвищення рівня некон'югованого білірубину після передозування ацетамінофеном. Гемоліз не є класичним ускладненням передозування ацетамінофеном, за винятком деяких пацієнтів з дефіцитом глюкозо-6-фосфатдегідрогенази. Також було висловлено припущення, що ацетамінофен може погіршувати поглинання білірубину з крові печінкою, конкуруючи з білірубіном за місця зв'язування на мембрані клітин печінки або в цитоплазмі, або пошкоджуючи механізм поглинання. Більш імовірно, що підвищення рівня некон'югованого білірубину при перебігу отруєння ацетамінофеном пов'язане з набутим дефіцитом глюкуронідації білірубину. Найбільш ураженою областю печінки після отруєння ацетамінофеном є централобулярна зона (зона III), яка має більший розподіл і вміст CYP450. Однак при надзвичайно токсичних дозах некроз може поширюватися і на зони I і II. Коли менш ефективна ниркова екскреція стає основним шляхом виведення менш водорозчинного некон'югованого білірубину, некон'югований білірубін також може накопичуватися в крові [28].

Також є свідчення, що парацетамол може конкурувати з білірубінном за виділення в жовч через каналцеву мембрану, як це відбувається з іншим органічним аніоном, а саме бромсульфталейном. Парацетамол потрапляє в жовч частково у вигляді глюкуронідного кон'югату, і було показано, що інші сполуки, які проходять через процес глюкоронідації через фермент уридиндифосфат-глюкуронілтрансферазу, можуть конкурувати за виведення в жовч [29].

Крім того низький вміст альбуміну в сироватці крові може підвищити ризик пошкодження, спричиненого некон'югованим білірубінном, через обмеження здатності метаболіту зв'язуватись з альбуміном і переноситись кровоплином до печінки [30]. Це узгоджується з паралельним дослідженнями білкових фракцій крові та вираженої гіпоальбумінемії.

Отже, на початкових стадіях відновлення тканини печінки (24 та 48 год) у щурів з токсичним ураженням підвищення рівня загального білірубіну в сироватці крові відбувається за рахунок зростання кількісного вмісту як прямої, так і непрямої фракції, тоді як на термінальних етапах переважає некон'югована гіпербілірубінемія.

ВИСНОВКИ

1. У здорових щурів, яким здійснювали часткову резекцію тканин печінки, лише на ранніх стадіях регенераційного процесу – фази праймінгу (24 год) та активної проліферації клітин (48 год) – спостерігається підвищення рівня лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази в сироватці крові. Водночас у тварин із токсичним ураженням зростання рівня ЛФ та ГГТ в сироватці крові відбувається впродовж всього періоду відновлення печінки з максимумом під час фази термінації та на завершальних етапах.
2. На початкових стадіях відновлення тканини печінки (24 та 48 год) у щурів з токсичним ураженням підвищення рівня загального білірубіну в сироватці крові відбувається за рахунок зростання кількісного вмісту як прямої, так і непрямой фракції, тоді як на термінальних етапах переважає некон'югована гіпербілірубінемія.