УДК 616.36-089.87-003.93-085.38:611.018.52]-092.9
https://doi.org/10.31612/2616-4868.2.2024.05

ВПЛИВ АУТОМЕЗОКОНЦЕНТРАТУ ТРОМБОЦИТІВ НА ЕТАПИ РЕГЕНЕРАЦІЇ ПЕЧІНКОВОГО ЗАЛИШКУ ЩУРІВ ЗА УМОВ ВИКОНАННЯ ОБ'ЄМНИХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ РЕЗЕКЦІЙ ПЕЧІНКИ

Руслан В. Салютін, Костянтин О. Юзвик

Державна установа «Національний інститут хірургії та трансплантології імені О. О. Шалімова» Національної Академії Медичних Наук України, м. Київ, Україна

Резюме

Вступ. Регенерація печінки відбувається у три етапи, кожен з яких регулюється різними факторами: фаза ініціації регулюється інтерлейкіном 6 (IL-6) та фактором некрозу пухлин (TNFα); фаза експансії – фактором росту гепатоцитів (HGF) і трансформуючим фактором росту альфа (TGFα); термінальна фаза – трансформуючим фактором росту бета (TGFβ) і активінами. У роботі визначено рівень маркерів основних етапів регенерації печінки після резекції 65-70 % паренхіми цього органу у щурів за умов застосування різних доз та схем введення аутомезоконцентрату тромбоцитів (АМК).
Мета дослідження – встановити особливості змін рівня цитокінів і факторів росту в гомогенаті печінки щурів після резекції 65-70 % паренхіми цього органу за умов застосування різних доз та схем введення АМК.
Матеріали та методи дослідження. Дослідження проводили на білих щурах лінії Wistar віком 1,5-2 місяці, масою 150-180 г. АМК вводили: у паренхіму печінкового залишку під час резекції у дозі 0,5 мл/кг (група I); у хвостову вену в післяопераційному періоді у дозі 0,5 мл/кг через 3 години та через 48 годин після резекції печінки (група II); у хвостову вену в післяопераційному періоді у дозі 1,0 мл/кг через 3 години та через 48 годин після резекції.
Результати дослідження та обговорення. Показано, що на 7-у добу після резекції печінки підвищувався рівень TNF-α і IL-6 у всіх дослідних групах з наступним зниженням на 10-у добу до значень контролю лише у групі тварин, яким АМК вводили внутрішньовенно у дозі 1 мл/ кг маси тварин. Встановлено, що значення HGF і TGFα у гомогенаті печінки тварин, які піддалися резекції печінки, були значно вищими ніж у контрольній групі на 7-у добу експерименту. На подальших етапах експерименту в тварин I та III груп спостерігалося зниження рівнів HGF і TGFα у гомогенаті печінки, проте значень контролю досліджувані показники не набували. У тварин групи II показники вмісту HGF і TGFα залишалися на найвищому рівні. Підвищення вмісту TGFβ й активінів у гомогенаті печінки щурів у всіх дослідних групах вказує на інтенсифікацію термінальної фази регенерації печінки на 10-у добу після резекції печінки.
Висновки. Отже, за дії дози АМК рівній 1 мл/кг найінтенсивніше відбуваються процеси регенерації, пік яких припадає на 7-10 добу після проведення резекції. Введення АМК у паренхіму печінки у нижчій дозі – 0,5 мл/кг або внутрішньовенне введення цієї ж дози не сприяє повному відновленню регенеративних процесів у печінці, на що вказують підвищенні рівні TGFα та HGF на 10-у добу після резекції печінки та введення АМК.

Ключові слова: **резекція печінки, регенерація, фактори росту, інтерлейкіни, аутомезоконцентрат тромбоцитів.**

ВСТУП

Регенеративна здатність печінки – один із важливих процесів у організмі, який визначає успіх проведення резекцій значної частини цього органу при різних патологіях, особливо у пацієнтів із захворюваннями печінки доброякісного ґенезу [1]. При порушенні регенеративних процесів може спостерігатися

печінкова недостатність або синдром малого розміру. Після резекцій 65-70 % і більше паренхіми печінки її функції можуть відновлюватися за рахунок збільшення об'єму шляхом регенерації [2]. Проте, одним із післяопераційних ускладнень гепатектомії є малий розмір й функціонально нездатний печінковий залишок [3]. Тому, для стимуляції проліферативних і репаративних процесів у печінковому залишку може бути ефективне застосування аутомезоконцентрату тромбоцитів (АМК) [4]. Збагачена тромбоцитами плазма може ефективно ініціювати регенерацію тканин печінки, що залежить як від концентрації тромбоцитів в аутомезоконцентраті, так і від наявності факторів росту [5].

Відомо, що регенерація печінки відбувається у три етапи, які регулюються різними факторами: 1) фаза ініціації регулюється інтерлейкіном 6 (IL-6) та фактором некрозу пухлин (TNFα), 2) фаза збільшення популяції гепатоцитів (експансії) відбувається під впливом фактора росту гепатоцитів (HGF) і трансформуючого фактора росту альфа (TGFα); 3) кінцева (термінальна) фаза регенерації печінки – збільшення клітинної маси та проліферація клітин регулюється трансформуючим фактором росту бета (TGFβ) і активінами [6]. Відкритими залишаються механізми впливу АМК на різні етапи регенеративних процесів у печінці. Окрім того, не зрозумілими залишаються питання ефективності різних доз та шляхів введення АМК для ініціації та перебігу регенеративних процесів у печінці після резекції 65-70 % паренхіми цього органу.

Мета дослідження – встановити особливості змін рівня цитокінів і факторів росту в гомогенаті печінки щурів після резекції 65-70 % паренхіми цього органу за умов застосування різних доз та схем введення аутомезоконцентрату тромбоцитів.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження проводили на білих щурах лінії Wistar віком 1,5-2 місяці, масою 150-180 г. Утримання тварин та всі маніпуляції з ними здійснювали відповідно до положень статті 26 Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 «Про захист тварин від жорстокого поводження», «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», які затверджені 20.09.2001 І Українським національним конгресом з біоетики, згідно з положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), а також з урахуванням положень, викладених у NIH Guide for the Care and Use of Laboratory Animals [7].

Для вивчення впливу АМК на регенеративні процеси в печінці, тварини були розділені на групи: I група – тварини, яким вводили АМК у паренхіму печінкового залишку під час резекції у дозі 0,5 мл/кг (n=30); II група – тварини, яким вводили АМК у хвостову вену в післяопераційному періоді (0,5 мл/кг через 3 години та через 48 годин) (n=30); III група – тварини, яким вводили подвійну дозу АМК у хвостову вену в післяопераційному періоді (1,0 мл/кг через 3 години та через 48 годин) (n=30). IV група – дослідний контроль (n=15), до якого увійшли «хибно оперовані» щури. Контрольну групу складали 15 інтактних тварин.

Для створення експериментальної моделі регенерації печінки лабораторним тваринам під наркозом діетиловим ефіром проведено субтотальну резекцію печінки. Тварин виводили з експерименту через 7 і 10 діб після резекції печінки. Процедура приготування АМК складалася з двох етапів центрифугування отриманої крові.

В гомогенаті печінки методом імуноферментного аналізу (ІФА) визначали вміст IL-6 та TNFα (діагностична тест-система фірми «IMMUNOTECH» (Франція). Кількісний аналіз вмісту HGF у зразках також проводили за ІФА (Cloud-Clone Corp., SEA047Ra, США. Вміст у печінці ізоформ протеїнів TGF та активінів визначали методом вестерн-блот гібридизації.

Статистичну обробку результатів здійснювали з використанням програми «Statistica for Windows». Статистично достовірну різницю показників між групами визначали за критерієм Стьюдента – при нормальному розподілі даних або за U-критерієм Манна-Уітні – при нерівномірному розподілі даних.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Різні етапи регенерації тканин печінки супроводжуються експресією інтерлейкінів і факторів росту, що лежить в основі регенеративних механізмів печінкового залишку після резекції 65-70 % паренхіми цього органу.

На першому етапі регенерації синтезується IL-6 та TNFα, експресію яких після резекції печінки оцінювали за їх концентрацією у гомогенаті печінкової тканини після введення різних доз АМК. Результати проведених досліджень показали, що рівень TNF-α в гомогенаті печінки зростав на 7-у добу після видалення частини печінки у тварин всіх експериментальних груп, окрім тварин дослідного контролю. Найвищі показники спостерігалися у щурів, яким АМК вводили внутрішньовенно у дозі 1 мл/кг. Так, у цієї групи тварин рівень TNF-α в гомогенаті печінки у 2,9 рази перевищував показник контрольної груп ($p<0,05$) (рис. 1). Введення АМК у дозі 0,5 мл/кг також призводило до підвищення рівня TNF-α, проте меншою мірою ніж за умов введення високих доз, оскільки підвищення спостерігалося у 1,8 рази при введенні в паренхіму печінки та у 1,9 рази при внутрішньовенному введенні порівняно з контролем ($p<0,05$) (рис. 1). Як видно з результатів дослідження підвищення рівня TNF-α не

залежало від схеми введення АМК, а більшою мірою залежало від дози введення.

На наступних етапах експерименту (10-а доба після резекції печінки) спостерігалося поступове зниження рівня TNF-α у гомогенаті печінки всіх дослідних груп, проте показники контролю набували значення лише у групі тварин після внутрішньовенного введення АМК у дози 1 мл/кг (рис. 1).

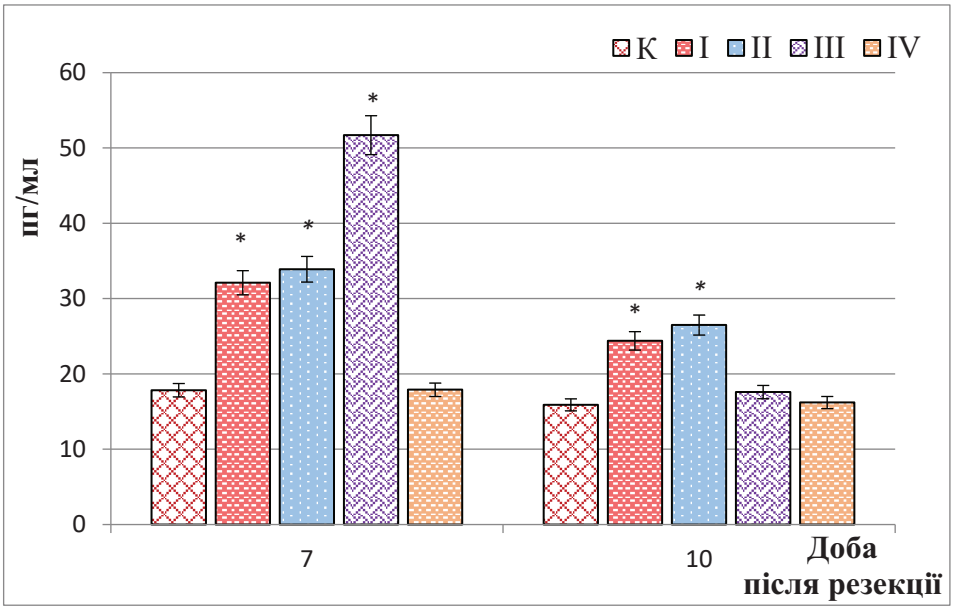


Рисунок 1. Вміст TNF-α у гомогенаті печінки щурів після резекції печінки за умов різних схем та доз введення аутомезоконцентрату тромбоцитів

Примітка (тут і надалі): К – інтактні тварини; I група – тварини, яким вводили АМК у паренхіму печінкового залишку під час резекції у 0,5 мл/кг; II група – тварини, яким вводили АМК у хвостову вену в післяопераційному періоді (0,5 мл/кг через 3 години та через 48 годин); III група – тварини, яким вводили подвійну дозу АМК у хвостову вену в післяопераційному періоді (1,0 мл/кг через 3 години та через 48 годин); IV група – дослідний контроль («хибно оперовані» щури); * – статистично достовірна різниця порівняно з показниками групи інтактних тварин, ($p<0,05$).

Подібні зміни спостерігалися і при дослідженні рівня IL-6 у печінці. Так, досліджуваний показник досягав піку на 7-у добу після резекції печінки у всіх дослідних групах, а згодом знижувався до 10-ї доби після резекції печінки. При чому в цей період експерименту досліджуваний показник наближався до показників контролю лише при введенні АМК у дозі 1 мл/кг, що, ймовірно, вказує на завершення ініціюючих процесів регенерації печінки у цих піддослідних тварин (рис. 2). За встановленими показниками можна передбачити початкові механізми регенерації печінки після резекції. Так, регенерація печінки – складний процес, який в основному ініціюється вивільненням цитокінів, серед яких TNF-α і IL-6 є важливими модуляторами регенерації печінки. Тому, на початкових етапах експерименту спостерігалося підвищення їхнього вмісту [8].

На подальших етапах процесу регенерації можуть синтезуватися інші фактори росту зі зниженням рівня TNF-α і IL-6, коли печінка повертається до свого нормального розміру. IL-6, який вводиться екзогенно з АМК [9], або виробляється макрофагами в печінці та гепатоцитах, активує клітини Купфера для вивільнення TNF-α. TNF-α, у свою чергу, стимулює вироблення IL-6. З досліджень випливає, що TNF-α та IL-6 є основними модуляторами регенерації печінки та можуть індукувати проліферацію гепатоцитів шляхом активації NF-κβ та STAT3 [10, 11]. Окрім того, у регенерації печінки важливу роль можуть відігравати ліпополісахариди C3a і C5a, які зв'язуються з відповідними рецепторами на макрофагах у печінці та модулюють експресію TNF-α та IL-6 [11]. IL-6/sIL-6R у поєднанні з факторами росту може сприяти ініціації клітинного циклу гепатоцитів через сигналізацію PI3K/AKT для сприяння регенерації печінки [12]. Також TNF-α може сприяти реплікації ДНК під час регенерації печінки [13]. В організмі натуральні клітини-кілери (NK) і NK-T-клітини посилюють TNF-α та IL-6/STAT3 через імунну відповідь і, у такий спосіб, можуть сприяти регенерації печінки [14, 15].

Після ініціації наступним етапом процесу регенерації печінки є збільшення популяції гепатоцитів (експансія), яка відбувається під впливом HGF і TGFα.

Встановлено, що значення HGF і TGFα у гомогенаті печінки тварин, які піддалися резекції печінки, були значно вищими, ніж у контрольній групі на 7-у

добу експерименту. Слід зауважити, що найвищий рівень цих факторів росту спостерігався при введенні АМК в паренхіму печінки та внутрішньовенно у дозі 1 мл/кг. Так, рівень HGF у 2,6 рази та у 3,2 рази перевищував показник контролю у цих групах тварин відповідно ($p<0,05$) (рис. 3). Водночас, рівень HGF у гомогенаті печінки тварин, яким АМК вводили у дозі 0,5 мл/кг внутрішньовенно у 1,8 рази перевищував значення контролю ($p<0,05$) (рис. 3). На подальших етапах експерименту у тварин I та III груп спостерігалося зниження рівня HGF у гомогенаті печінки, проте значень контролю досліджуваний показник не набував. У тварин групи II показник рівня HGF залишався на найвищому рівні (рис. 3).

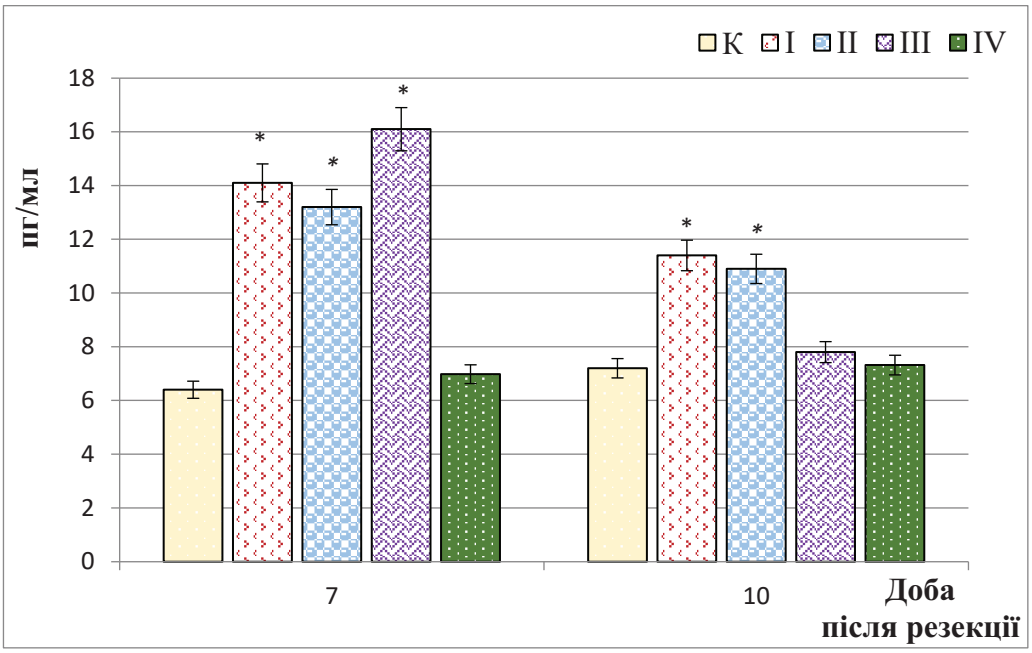


Рисунок 2. Вміст IL-6 у гомогенаті печінки щурів після резекції печінки за умов різних схем та доз введення аутомезоконцентрату тромбоцитів

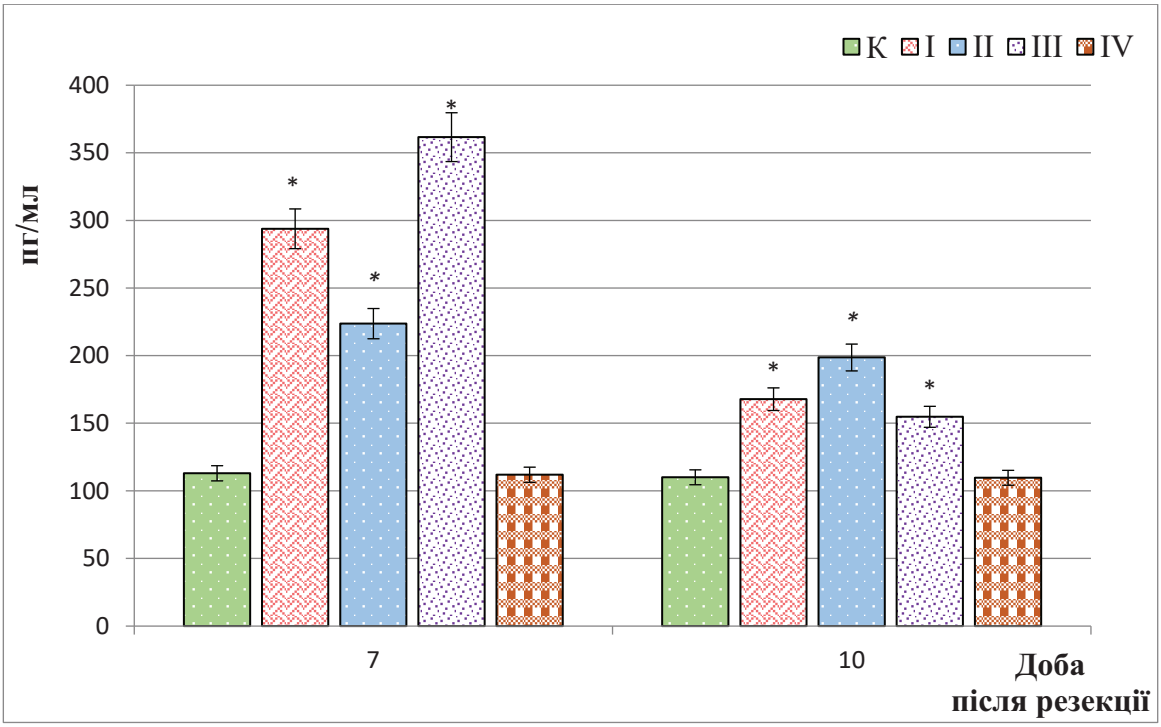


Рисунок 3. Вміст HGF у гомогенаті печінки щурів після резекції печінки за умов різних схем та доз введення аутомезоконцентрату тромбоцитів

Встановлені результати вказують, що HGF тісно пов'язаний з відновленням печінки після резекції значної її частини. Концентрація HGF у плазмі крові, ймовірно, змінюється протягом процесу відновлення. Так, на початкових етапах рівень HGF підтримується на рівні високих концентрацій під час фази безперервної регенерації до етапів завершення регенерації – від 7 до 10 доби в наших експериментах. Підвищені рівні, які все ще спостерігалися на 10-у добу після введення АМК, можуть вказувати на незначне продовження процесів регенерації. Проте у I та III групах процес завершення регенерації більше наближений ніж у II групі, що, імовірно, пов'язано з кінцевим об'ємом печінки.

Механізм участі HGF у регенерації печінки полягає в тому, що коли печінка втрачає свою середню масу, об'єм, фізіологічні та біохімічні функції, то HGF зв'язується зі своїм специфічним рецептором c-Met і передає сигнали в клітини та запускає внутрішню активність кінази. Потім включаються шляхи JAK/STAT3, PI3K/Akt/NF-κB і Ras/Raf, які впливають на проліферацію, ріст і виживання клітин. Високі дози АМК та безпосереднє введення АМК в паренхіму печінки, імовірно стимулюють синтез HGF [16].

Під час визначення рівня TGFα у гомогенаті печінки тварин виявлено його підвищення у 2,4 рази та у 2,9 рази порівняно з показником контролю при введенні АМК у паренхіму печінки та введенні дози 1 мл/кг внутрішньовенно на 7-у добу експерименту відповідно ($p<0,05$) (рис. 4).

Поряд з цим при застосуванні дози 0,5 мл/кг внутрішньовенно рівень TGFα у гомогенаті печінки тварин підвищувався у 1,9 рази порівняно з контролем ($p<0,05$) (рис. 4). На 10-у добу експерименту виявлено зниження рівня TGFα у гомогенаті печінки щурів, проте значень контролю досліджуваний показник не набував (рис. 4). Підвищення рівня TGFα в тканинах печінки може вказувати на інтенсивність процесів регенерації печінки, оскільки TGFα є аутокринним стимулятором проліферації гепатоцитів, рівень якого тимчасово підвищується при реплікації гепатоцитів [17].

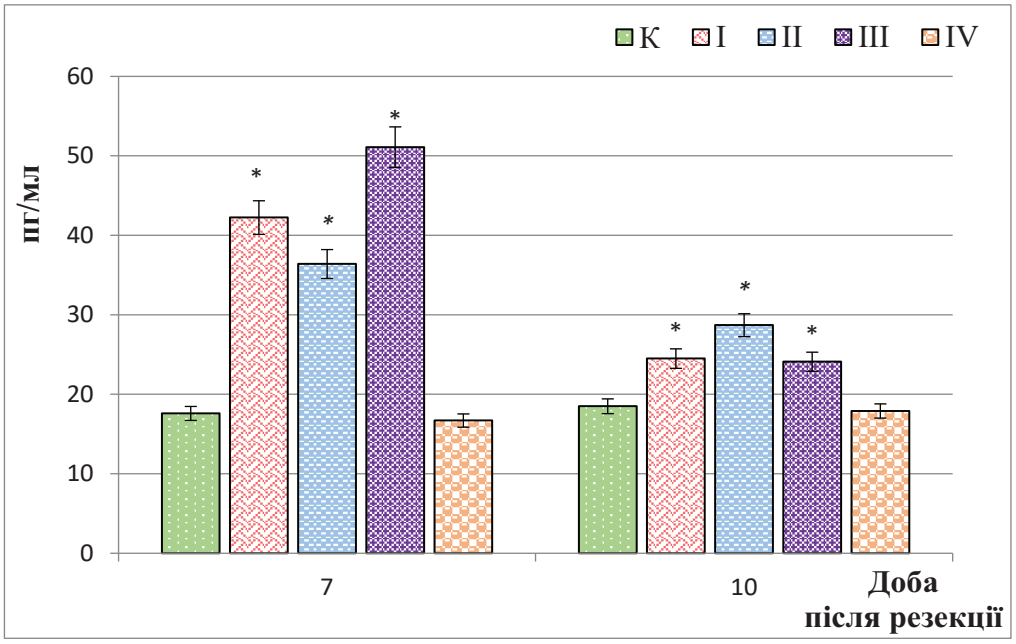
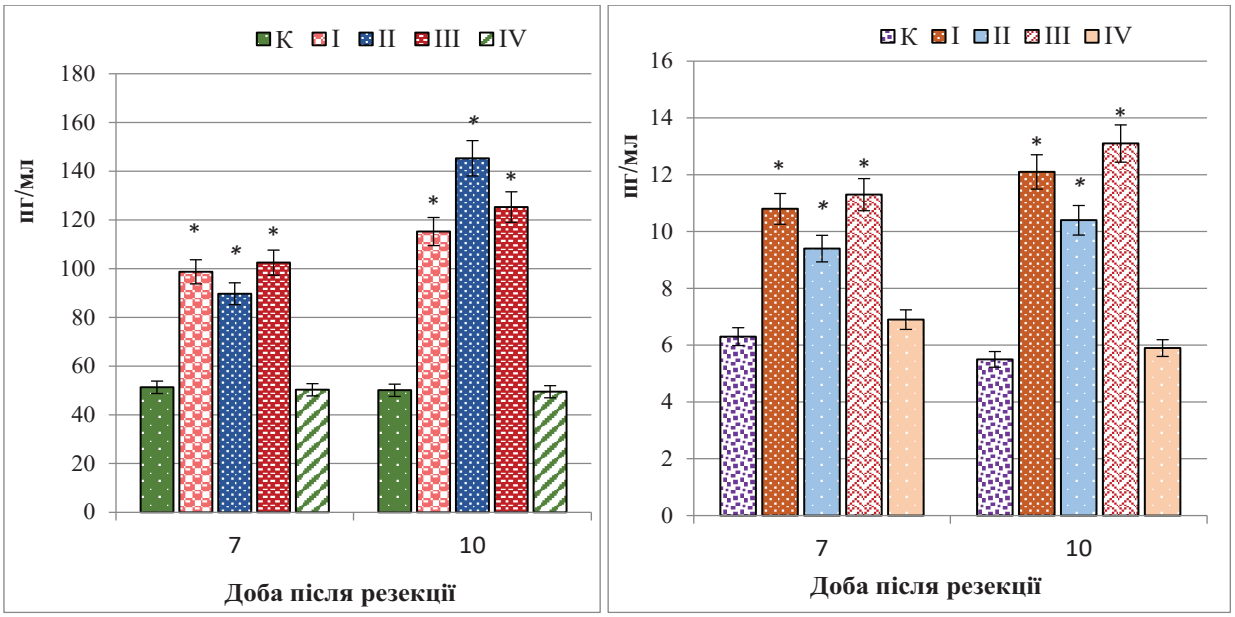


Рисунок 4. Вміст TGFα у гомогенаті печінки щурів після резекції печінки за умов різних схем та доз введення аутомезоконцентрату тромбоцитів

Термінальна фаза регенерації печінки супроводжується збільшенням як проліферації клітин, так і клітинної маси, що регулюється TGFβ і активінами.

Результати проведених досліджень показали, що по мірі віддалення від терміну резекції та введення АМК спостерігалося підвищення рівня TGFβ і активінів у гомогенаті печінки з максимальними значеннями на 10-у добу експерименту (рис. 5А). Встановлено, що рівень TGFβ в гомогенаті печінки у 2,3 рази, у 2,9 рази та у 2,5 рази перевищував показник контрольних тварин у I, II та III групах відповідно ($p<0,05$) (рис. 5А). Причому у тварин дослідного контролю статистично достовірної різниці порівняно з показниками інтактних тварин не виявлено (рис. 5А).

Збільшення концентрації TGFβ у печінці, яка регенерує, може сприяти утворенню компонентів позаклітинного матриксу та сигналізувати про закінчення проліферації гепатоцитів. Печінка містить TGFβ1, 2 і 3, кожен з яких пригнічує синтез ДНК гепатоцитів. Їх мРНК збільшується в печінці, що регенерує, але з дуже різною кінетикою [17].



А *Б*

Рисунок 5. Вміст TGFβ (А) й активінів (Б) у гомогенаті печінки щурів після резекції печінки за умов різних схем та доз введення аутомезоконцентрату тромбоцитів

Підвищення рівня TGFβ може бути пов'язано із секрецією активінів – протеїнів, що належать до родини сигнальних молекул TGFβ. Сигнали активіну є вирішальними для диференціації та регуляції клітинної проліферації та апоптозу в багатьох тканинах [18]. Результати дослідження показали їх підвищення у гомогенаті печінки всіх дослідних груп тварин з максимальними значеннями на 10-у добу експерименту, що вказує на інтенсивні процеси термінальної стадії регенерації печінки (рис. 5Б).

Підвищення рівня активінів, імовірно, повязано із передачею сигналів на термінальній стадії регенерації печінки. Як і інші члени родини TGF-β, активіни передають сигнал через однопрохідні трансмембранні рецептори з внутрішньоклітинним доменом кінази Ser-Thr [19]. У інтенсивно регенеруючій печінці експресія генів активіну знижена, що ми спостерігаємо на 7-добу експерименту, оскільки на 10-у добу рівень активінів у гомогенаті печінки підвищувався (рис. 5Б). Імовірно, в моменти часу, коли відбулася реплікація гепатоцитів рівень активінів недостатньо підвищується, тоді як інтенсивне збільшення виявляється в моменти часу, коли регенерація печінки припиняється.

ВИСНОВКИ

На ранніх стадіях процесу регенерації печінки щурів після резекції 65-70 % її паренхіми виявлено підвищення рівня TNFα та IL-6, що вказує на ініціацію їхньої експресії, ймовірно, клітинами Купфера, оскільки проліферація та ріст гепатоцитів індукуються переважно у відповідь на TGFα і HGF. За дії дози АМК рівній 1 мл/кг найінтенсивніше відбуваються процеси регенерації, пік яких припадає на 7-10 добу після проведення резекції. Введення АМК у паренхіму печінки у нижчій дозі – 0,5 мл/кг або внутрішньовенне введення цієї ж дози не сприяє повному відновленню регенеративних процесів у печінці, на що вказують підвищені рівні TGFα та HGF на 10-у добу після резекції печінки та введення АМК. Це може вказувати на проходження інтенсивних регенеративних процесів ще на 10-у добу у печінці.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати можуть бути основою для прогнозу майбутніх резекцій печінки у людей та застосування АМК. Запропоновані нами схеми введення та дози АМК свідчать про те, що їх можна використовувати у клінічній практиці, що забезпечить більшу регенерацію печінки після її резекції за умов різних патологій.

ФІНАНСУВАННЯ ТА КОНФЛІКТ ІНТЕРЕСІВ

Це дослідження є фрагментом планової НДР. Фінансування за рахунок держбюджету.

Автори, які взяли участь в цьому дослідженні, декларують відсутність конфлікту інтересів щодо цього рукопису.

ДОТРИМАННЯ ЕТИЧНИХ НОРМ

Усі маніпуляції з тваринами й їх утримання проводили відповідно до положень, затверджених «Європейською конвенцію про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986).

REFERENCES

1. Michalopoulos, G.K., Bhushan, B. (2021). Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.,18(1), 40-55.
2. Tang, C., Chen, H., Jiang, L., Liu, L. (2022). Liver regeneration: changes in oxidative stress, immune system, cytokines, and epigenetic modifications associated with aging. Oxid Med Cell Longev., 9018811.
3. Xiong, K.G., Lin, T.S., Kong, J.F., Lin, Q.B., Chen, L.F., Ke, K.Y. (2023). Impact of MAFLD on the complications after hepatectomy in patients with HBV-related hepatocellular carcinoma. Medicine (Baltimore).,102(9), e33062.
4. Kirschbaum, M., Adelmeijer, J., Alkozai, E.M., Porte, R. J. Lisman, T. (2016). Evidence against a role for platelet-derived molecules in liver regeneration after partial hepatectomy in humans. J Clin Transl Res.,2(3),97-106.
5. Ben-Moshe, S.., Veg, T., Manco, R., Dan, S., Papinutti, D., Lifshitz, A., et al. (2022). The spatiotemporal program of zonal liver regeneration following acute injury. Cell Stem Cell., 29(6), 973-989. e10.
6. Zuñiga-Aguilar, E., Ramírez-Fernández, O. (2022). Fibrosis and hepatic regeneration mechanism. Transl Gastroenterol Hepatol.,7, 9.
7. National Research Council (US). (2011).Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.: Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. National Academies Press, Washington.
8. Chae, M.S., Moon, K.U., Chung, H.S., Park, C.S., Lee, J., Choi, J.H., et al. (2018). Serum interleukin-6 and tumor necrosis factor-α are associated with early graft regeneration after living donor liver transplantation. PLoS One.,13(4), e0195262.
9. Pochini, A.C., Antonioli, E., Bucci, D.Z., Sardinha, L.R., Andreoli, C.V., Ferretti, M., et al. (2016). Analysis of cytokine profile and growth factors in platelet-rich plasma obtained by open systems and commercial columns. Einstein (Sao Paulo).,14(3),391-397.
10. Michalopoulos, G.K., Bhushan, B. (2021). Liver regeneration: biological and pathological mechanisms and implications. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.,8(1),40-55.
11. Tao, Y., Wang, M., Chen, E., Tang, H. (2017). Liver regeneration: analysis of the main relevant signaling molecules. Mediat Inflamm.,4256352.
12. Nechemia-Arbely, Y., Shriki, A., Denz, U., Drucker, C., Scheller, J., Raub, J., et al. (2011). Early hepatocyte DNA synthetic response posthepatectomy is modulated by IL-6 trans-signaling and PI3K/AKT activation. J Hepatol.,54,922-929.
13. Finot, F., Masson, R., Desmots, F., Ribault, C., Bichet, N., Vericat, J.A., et al. (2012). Combined stimulation with the tumor necrosis factor and the epidermal growth factor promotes the proliferation of hepatocytes in rat liver cultured slices. Int J Hepatol.,785-786.
14. Hosoya, S., Ikejima, K., Takeda, K., Arai, K., Ishikawa, S., Yamagata, H., et al. (2013). Innate immune responses involving natural killer and natural killer T cells promote liver regeneration after partial hepatectomy in mice. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol., 304, G293-G299.
15. Ketsa, O.V., Zelinska, M.O., Marchenko, M.M. (2022). Oxidative modification of proteins and activity of antioxidant enzymes in the mitochondrial fraction of rat liver under the action of laser irradiation and ω-3 polyunsaturated fatty acids. Ukr Biochem J., 94(1), 44-52.
16. Dong, X., Luo, Y., Lu, S., Ma, H., Zhang, W., Zhu, Y., et al. (2021). Ursodesoxycholic acid alleviates liver fibrosis via proregeneration by activation of the ID1-WNT2/HGF signaling pathway. Clin Transl Med.,11(2), e296.
17. Gupta, P., Sata, T.N., Yadav, A.K., Mishra, A., Vats, N., Hossain, M.M., et al. (2019). TGF-β induces liver fibrosis via miRNA-181a-mediated down regulation of augmenter of liver regeneration in hepatic stellate cells. PLoS One.,14(6), e0214534.
18. Bao, Y., Yao, X., Li, X., Ei-Samahy, M.A., Yang, H., Liang, Y., et al. (2021). INHBA transfection regulates proliferation, apoptosis and hormone synthesis in sheep granulosa cells. Theriogenology.,175,111-122.
19. Bloise, E., Ciarmela, P., Dela, Cruz, C., Luisi, S., Petraglia, F., Reis, F.M. (2019). Activin A in mammalian physiology. Physiol Rev.,99(1),739-780.

Summary

THE EFFECT OF AUTOMESOCONCENTRATE OF PLATELETS ON THE STAGES OF REGENERATION OF THE LIVER REMNANT OF RATS UNDER THE CONDITIONS OF PERFORMING VOLUMETRIC EXPERIMENTAL LIVER RESECTIONS

Ruslan V. Salyutin, Kostyantyn O. Yuzvyk

State Institute «Shalimov's National Institute of Surgery and Transplantation» National Academy of Medical Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine

Introduction. Liver regeneration occurs in three stages, each of which is regulated by different factors: the initiation phase is regulated by interleukin 6 (IL-6) and tumor necrosis factor (TNFα); expansion phase – by hepatocyte growth factor (HGF) and transforming growth factor alpha (TGFα); the terminal phase – transforming growth factor beta (TGFβ) and activins. The work determined the level of markers of the main stages of liver regeneration after resection of 65-70 % of the parenchyma of this organ in rats under the conditions of using different doses and schemes of administration of automesoconcentrate of platelets (AMC). The purpose of the study is to establish the characteristics of changes in the level of cytokines and growth factors in the homogenate of the liver of rats after resection of 65-70 % of the parenchyma of this organ under the conditions of the use of different doses and schemes of AMC administration.

Materials and methods. The study was conducted on white Wistar rats aged 1.5-2 months, weighing 150-180 g. AMC was injected: into the parenchyma of the liver remnant during resection at a dose of 0.5 ml/kg (group I); into the tail vein in the postoperative period at a dose of 0.5 ml/kg 3 hours and 48 hours after liver resection (group II); into the tail vein in the postoperative period at a dose of 1.0 ml/kg 3 hours and 48 hours after resection.

Research results and discussion. It was shown that on the 7th day after liver resection, the level of TNF-α and IL-6 increased in all experimental groups, followed by a decrease on the 10th day to control values in the group of animals that received AMA intravenously at a dose of 1 ml/kg masses of animals. It was established that the values of HGF and TGFα in the liver homogenate of animals that underwent liver resection were significantly higher than in the control group on the 7th day of the experiment. At the later stages of the experiment, a decrease in the levels of HGF and TGFα in the liver homogenate was observed in the animals of groups I and III, but the studied indicators did not reach control values. In animals of group II, indicators of HGF and TGFα content remained at the highest level. The increase in the content of TGFβ and activins in the homogenate of the liver of rats in all experimental groups indicates the intensification of the terminal phase of liver regeneration on the 10th day after liver resection.

Conclusions. Therefore, under the action of a dose of AMC equal to 1 ml/kg, the regeneration processes occur most intensively, the peak of which occurs 7-10 days after the resection. Administration of AMA into the liver parenchyma at a lower dose of 0.5 ml/kg or intravenous administration of the same dose does not contribute to the complete restoration of regenerative processes in the liver, as indicated by increased levels of TGFα and HGF on the 10th day after liver resection and administration of AMA.

Keywords: **liver resection, regeneration, growth factors, interleukins, automesoconcentrate of platelets**