

МАРКЕРИ ЗАПАЛЕННЯ У ЩУРІВ ЗА УМОВ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ НА ТЛІ АЛІМЕНТАРНОЇ НЕСТАЧІ ПРОТЕЇНУ

Г. П. КОПИЛЬЧУК*, І. М. НИКОЛАЙЧУК, М. В. НІКОРИЧ

Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича,
вул. Коцюбинського, 2, м. Чернівці, 58012
*e-mail: g.kopilchuk@chnu.edu.ua

У роботі представлені дослідження біомаркерів розвитку запальних реакцій в сироватці крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну.

Дослідні тварини протягом експерименту споживали напівсинтетичний раціон відповідно до рекомендацій Американського інституту харчування. З метою моделювання аліментарної депривації протеїну щурі впродовж 28 днів щоденно отримували низькопротеїновий раціон, що містив 1/3 загальноприйнятої норми добової потреби білка. Після чотиритижневого утримання тварин на експериментальній дієті моделювали гостре токсичне ураження ацетамінофеном. Введення токсину здійснювали з розрахунку 1250 мг/кг маси тварини у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю один раз в день протягом 2 діб за допомогою спеціального зонда.

Визначення рівня С-реактивного білка, прокальцитоніну, фактора некрозу пухлини-альфа, інтерлейкіну-6 в сироватці крові щурів проводили методом імуноферментного аналізу. Нами встановлено, що токсичне ураження медикаментозним ксенобіотиком (ацетамінофеном) на тлі аліментарної нестачі протеїну супроводжується максимальним підвищенням рівня С-реактивного білка (в 15,5 разів) та прокальцитоніну (в 10 разів) в сироватці крові щурів порівняно зі значенням контролю, що можна розглядати як прогностичні біомаркери системної запальної реакції за даних експериментальних умов.

Водночас за даних умов у сироватці крові дослідних груп щурів зареєстровано гіперпродукцію фактора некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-6 з максимальними значеннями при введенні токсичних доз ацетамінофену протеїнодефіцитним тваринам, що узгоджується зі змінами рівня С-реактивного білка та прокальцитоніну.

Встановлений нами факт дає можливість припустити, що аліментарна депривація протеїну посилює продукування TNF-α та IL-6 як прозапальних медіаторів при токсичному ураженні ацетамінофеном, таким чином індукуючи первинне пошкодження паренхіматозних клітин печінки.

Ключові слова: С-реактивний білок, прокальцитонін, фактор некрозу пухлини-альфа, інтерлейкін-6, аліментарна депривація протеїну, ацетамінофен

Вступ. Останні роки характеризуються стрімким збільшенням патологій печінки, які розвиваються на тлі нутритивного дисбалансу харчового раціону (Batool et al., 2015, Kitada et al., 2019). Аліментарна депривація протеїну навіть при надлишку надходження енергетичних субстратів часто призводить до функціональної недостатності органів (Solon-Biet et al., 2015), що збільшує сприйнятливості до інфекцій та/або індукує жирову інфільтрацію печінки.

У літературних джерелах (Mastronuzzi et al., 2019, Drevet et al., 2019) нераціональне харчування розглядають як фактор ризику виникнення гепатопатологій, що характеризується гіперфагічною реакцією на дефіцит протеїну та проявляється гіперсенситивністю на зовнішні харчові тригери незалежно від стану гомеостатичних стимулів.

Водночас досить часто перебіг аліментарно-залежних захворювань посилюється внаслідок безсистемного використання широкого спектру Біологічні системи. Т.15. Вип.2. 2023

загальнодоступних лікарських засобів, які використовують для корекції патологічних станів.

Нині найпоширенішим безрецептурним анальгетиком-антипіретиком є парацетамол (ацетамінофен, N-ацетил-р-амінофенол), який вважають безпечнішим порівняно з нестероїдними протизапальними засобами, такими як ібупрофен, диклофенак тощо (Chiew et al., 2018). Збільшення частоти застосування препарату без дотримання вимог дозування та інтервалу між його прийомами в останні роки викликало занепокоєння щодо медикаментозного ураження організму. Потенційно токсичними вважаються дози, які перевищують 150 мг/кг для дітей і більше 7–10 г – для дорослих (Normandin et al., 2020). Фактично, ацетамінофен-індуковані ураження вийшли у лідери серед причин гострої печінкової недостатності (Chiew et al., 2018).

У зв'язку з цим дисбаланс нутрієнтів у харчовому раціоні, нераціональне використання

терапевтичних засобів із протизапальною, анальгетичною та жарознижувальною дією часто супроводжуються розвитком оксидативного ушкодження клітин, що підтверджено нашими попередніми дослідженнями (Korylchuk et al., 2021). Токсичне ураження печінки може призводити до патологій різного ступеня – від стеатозу, що переходить у стеатогепатит, та навіть закінчується цирозом (Ramachandran et al., 2019). Проте існуючі відмінні характеристики швидкості та характеру патологічних змін досить часто не мають наукового обґрунтування, що супроводжується важкістю встановлення критеріїв лабораторної діагностики біохімічних змін, за якими можна було б контролювати прогресування захворювання (Mandato et al., 2017).

Враховуючи вищесказане, метою роботи стало дослідження біомаркерів запалення у сироватці крові щурів за умов токсичного ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну.

Матеріали та методи. Для досліджень використовували білих щурів масою 120-140 г та віком 2,5-3 місяці. Усі маніпуляції проводили відповідно до загальних етичних принципів експериментів на тваринах, регламентованих положеннями «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986 р., зі змінами, 1998 р.) та «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Щурів утримували у пластмасових клітках із піщаною підстилкою та вільним доступом до води. Дослідні тварини протягом експерименту споживали напівсинтетичний раціон AIN-93 відповідно до рекомендацій Американського інституту харчування (Reeves et al., 1993).

Нормування добового раціону проводили з урахуванням принципу *pair-feeding* (Lind T. et al., 2018).

Після чотиритижневого утримання тварин на експериментальній дієті моделювали гостре токсичне ураження ацетамінофеном. Введення токсину здійснювали з розрахунку 1250 мг/кг маси тварини у вигляді суспензії в 2 % розчині крохмального гелю один раз на день протягом 2 діб за допомогою спеціального зонда (Korylchuk et al., 2020). Дослідних тварин було розділено на групи: К – контрольні тварини, які споживали повноцінний раціон; НПР – щури, які перебували на низькопротеїновій дієті; ТУ – щури з ацетамінофен-індукованим токсичним

ураженням; НПР+ТУ – щури з ацетамінофен-індукованим токсичним ураженням на тлі аліментарної депривації протеїну.

Усіх тварин виводили з дослідів під легким ефірними наркозом шляхом цервікальної дислокації шийних хребців.

Визначення рівня С-реактивного білка (СРБ), прокальцитоніну (ПК), фактора некрозу пухлини-альфа (TNF- α), інтерлейкіну-6 (IL-6) в сироватці крові проводили методом імуноферментного аналізу, що ґрунтується на імунологічній реакції антигену з відповідним антитілом, утворюючи комплекс антиген-антитіло. Для виявлення даного комплексу використовували кон'югати антигену, антитіла або обох компонентів цієї реакції з ензимами. Індикатором реакції слугувала здатність ензимів викликати руйнування субстрату з утворенням забарвленого продукту. При змішуванні ензимо-міченого антитіла і сироватки, що містила нативний антиген, відбувалася реакція утворення сендвіч-комплексу. Після інкубації зв'язану фракцію антиген-антитіло відокремлювали від незв'язаних антигенів декантацією або промиванням. Активність ензиму в фракції зв'язаних антитіл прямо пропорційна концентрації нативного антигену. Розрахунок концентрації продуктів у дослідних зразках здійснювали за калібрувальною кривою при використанні декількох стандартів антигенів.

Статистичний аналіз отриманих результатів досліджень здійснювали з використанням прикладних програм статистичного аналізу *Microsoft Excel 2010* та *STATISTICA 6.0*. Для оцінки міжгрупових відмінностей застосовували параметричний t-критерій Стюдента. Різницю між показниками вважали статистично значущою при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Результати досліджень показали, що в сироватці крові усіх дослідних груп щурів спостерігається підвищення С-реактивного білка порівняно зі значеннями контролю (рис. 1).

У групі тварин, які споживали низькопротеїнову дієту, даний показник вдвічі перевищує значення контрольних величин. С-реактивний білок синтезується в печінці під впливом цитокінів як реакція у відповідь на запальні або некротичні процеси в будь-якому з органів. Продуктування С-реактивного протеїну залежить від інтенсивності патологічного процесу, тобто чим більше він виражений, тим більше СРБ надходить у кровоплин у відповідь на запалення (Oh et al., 2011).

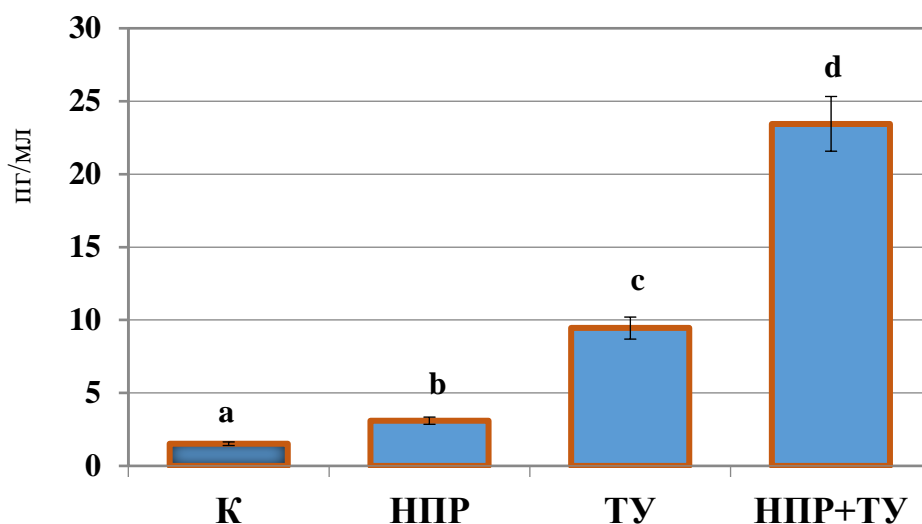


Рис. 1. Вміст С-реактивного білка в сироватці крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Примітка (тут і надалі): К – тварини, які отримували повноцінний раціон (контроль); НПР – тварини, які перебували на низькопротеїновій дієті; ТУ – тварини, яким викликали токсичне ураження; НПР+ТУ – тварини, яким на тлі низькопротеїнового раціону моделювали токсичне ураження; a, b, c, d – статистично вірогідна різниця між групами та порівняно з контролем, $P \leq 0,05$.

Fig. 1. The content of C-reactive protein in the blood serum of rats under the conditions of toxic damage after alimentary protein deprivation

Note (hereinafter): C – animals that received a full semi-synthetic diet; LPD – animals that consumed a low-protein diet, TD – animals that simulated acute toxic damage; LPD+TD – animals with induced toxic damage after low-protein dieting; a, b, c, d – statistically significant difference between groups and compared to the control, $P \leq 0.05$.

Можна припустити, що в групі протеїнодефіцитних щурів такі зміни пов'язані з розвитком метаболічного запалення. Печінка також робить певний внесок у розвиток цього типу запалення. Дійсно, вироблення прозапальних цитокінів, що виділяються резидентними макрофагами в печінці, пов'язане з порушенням передачі сигналів інсуліну в печінці (Tilg et al., 2008), що узгоджується з результатами попередніх досліджень щодо рівня С-пептиду та інсуліну за даних експериментальних умов (Korylchuk et al., 2021). За даними літератури (van der Heijden et al., 2015), посилена експресія генів запалення в печінці після годування дієтами, розбалансованими за кількістю макронутрієнтів, пов'язана зі зниженою чутливістю до інсуліну в мишей, що підтверджує взаємозв'язок метаболічного запалення з розвитком інсулінорезистентності.

Водночас у групах щурів, яким вводили токсичні дози ацетамінофену (ТУ та НПР+ТУ) рівень С-реактивного білка в сироватці крові перевищує значення контролю в 6,5 та 15,5 разів відповідно (рис. 1). Ураження печінки, викликане ацетамінофеном (АРАР), є основною причиною гострої печінкової недостатності (ГПН). На ранній стадії ГПН при передозуванні АРАР метаболізується до N-ацетил-р-бензохінону ферментами цитохрому Р450 у гепатоцитах.

Надлишок N-ацетил-р-бензохінону виснажує клітинні запаси глутатіону (GSH) і утворює аддукти з білками, що призводить до дисфункції мітохондрій і утворення активних форм кисню. Ці токсичні явища ще більше посилюються активацією внутрішньоклітинної сигналізації, такої як JNK, і врешті-решт призводять до некрозу гепатоцитів. Під час пізньої фази ГПН сигнали, що поширюються некротичними гепатоцитами, викликають вроджену імунну відповідь шляхом рекрутування та активації резидентних клітин Купфера та циркулюючих моноцитів і нейтрофілів. Ці запальні реакції викликають пошкодження сусідніх гепатоцитів, тим самим посилюючи ранню фазу гепатоцитарно-автономної токсичності, спричиненої АРАР (Li et al., 2022).

Синтез і секреція СРБ стимулюється інтерлейкіном-6, раннім плейотропним цитокіном, що виділяється макрофагами, ендотеліальними та іншими клітинами, які активуються у відповідь на запалення. Ця метаболічна відповідь супроводжується зміною біосинтезу низки білків гострої фази. Тому підвищення рівня СРБ в крові корелює з початком і ступенем як активованого запалення, так і біохімічної відповіді гострої фази на ураження тканин (McFadyen et al., 2018).

Ще одним біомаркером системного запального

процесу є прокальцитонін (ПК), який за фізіологічних умов синтезується С-клітинами щитоподібної залози в дуже низькій концентрації (менше 0,05 нг/мл). Проте під час запальної реакції, викликаній інфекційними агентами невідомої етіології, численні клітини та тканини можуть продукувати його з посиленням надходженням у кровоплин.

У літературі зазначається, що концентрація прокальцитоніну в крові зазвичай зростає при бактеріальній інфекції, а неспецифічні запальні чи вірусні захворювання характеризуються низькими концентраціями даного показника. Вважають, що на пізніх стадіях захворювань печінки ПК має діагностичне значення для оцінки бактеріальної інфекції. Нещодавно науковці встановили, що рівень прокальцитоніну може використовуватися як маркер гепатоцелюлярного

пошкодження та відображає ступінь тяжкості патологічних станів печінки, що підвищує його діагностичну цінність (Sato et al., 2020).

Нами встановлено, що концентрація прокальцитоніну в сироватці крові зростає у всіх дослідних групах щурів з максимальними значеннями (> 10 разів порівняно з контролем) в тварин, яким на тлі аліментарної депривації протеїну моделювали гостре токсичне ураження ацетамінофеном (рис. 2).

Під час розвитку системної запальної реакції шляхи продукування ПК не повністю зрозумілі. Декілька досліджень показали, що утворення прокальцитоніну відбувається у відповідь на бактеріальний ліпополісахарид або інші ендотоксини та маркери запалення, такі як IL- β , IL-6, TNF- α , IL-2 тощо (Dandona et al., 2014).

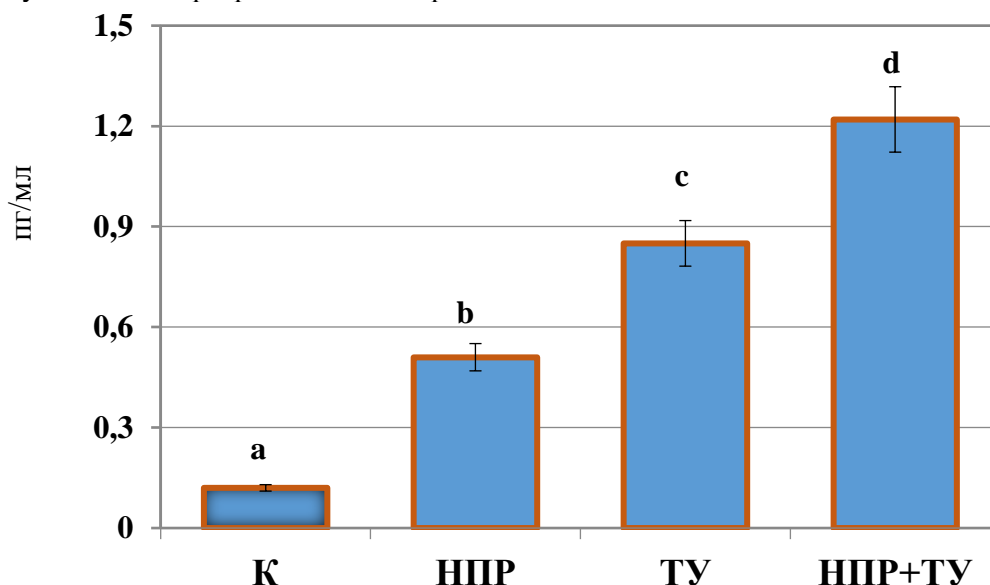


Рис. 2. Концентрація прокальцитоніну в сироватці крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 2. Concentration of procalcitonin in blood serum of rats under conditions of toxic damage against the background of alimentary protein deprivation

Печінка відіграє центральну роль у виявленні та реагуванні на запальні сигнали. На ранніх стадіях запалення цитокіни, що виробляються імунними клітинами, потрапляють у кров і виявляються гепатоцитами, які ініціюють системну відповідь гострої фази. Тому гепатозити на порядки збільшують продукування білків гострої фази.

Гостре запалення печінки призводить до рекрутування та активації популяції лейкоцитів, а також до індукції фіброзних реакцій у місці запалення. Цей процес регулюється запальними цитокінами та факторами росту, що виділяються лейкоцитами, які переміщуються до пошкодженої тканини. Серед них ключова роль належить TNF- α та IL-6 (Pellicoro et al., 2014).

Отримані нами результати щодо рівня С-реактивного білка (рис. 1) та прокальцитоніну (рис. 2) узгоджуються зі змінами вмісту фактора некрозу пухлини-альфа в сироватці крові щурів усіх дослідних груп (рис. 3). З рисунку видно, що максимальне зростання концентрації даного показника зареєстровано за умов введення токсичних доз ацетамінофену (ТУ та ННР+ТУ), що в 10 та 13 разів перевищує значення контрольних величин. Передбачається, що TNF-альфа діє як медіатор при токсичному ураженні, посилюючи первинне пошкодження паренхіматозних клітин печінки.

Нові клінічні дані підтверджують гіпотезу про те, що передача сигналу TNF- α може відігравати істотну роль у прогресуванні стеатогепатиту,

оскільки рівні TNF- α в печінці та циркулюючій крові корелюють із тяжкістю перебігу захворювання (Schwabe et al., 2006). Під час розвитку гепатопатологій важливу роль у модуляції експресії TNF- α відіграють клітини Купфера. Ці клітини є макрофагами, які розташовані в синусоїдах печінки, що становлять майже 15% від загальної популяції клітин печінки. На клітинному рівні клітини Купфера

відіграють ключову роль у відповіді на запалення.

Клітини Купфера можуть диференціюватися в класично активовані макрофаги (тип M1), і, у свою чергу, сприяють апоптозу гепатоцитів, що згодом призводить до вивільнення, по суті, прозапальних факторів, особливо TNF- α , щоб стимулювати залучення та інфільтрацію циркулюючих моноцитів і макрофагів.

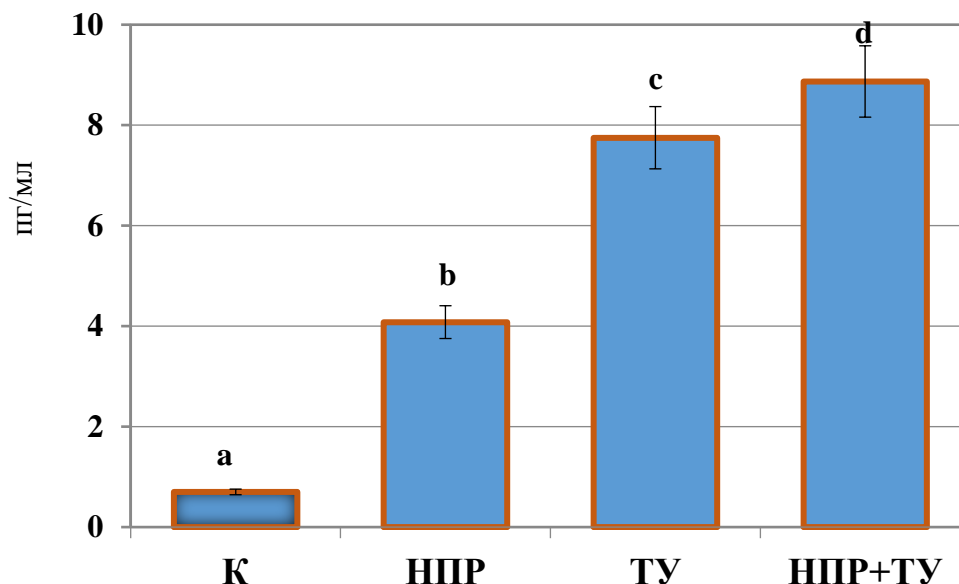


Рис. 3. Рівень фактора некрозу пухлини-альфа (TNF- α) в сироватці крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 3. The level of tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in the blood serum of rats under conditions of toxic damage against the background of alimentary protein deprivation

Підсумовуючи, можна сказати, що гепатоцити та клітини Купфера є основними джерелами продукції TNF- α на початковій стадії токсичного ураження печінки, тоді як інфільтровані моноцити та макрофаги пізніше беруть участь у порочному колі сигнального каскаду TNF- α під час прогресування захворювання (Lu et al., 2022).

Як уже згадувалося, основним індуктором білків гострої фази печінки є цитокін IL-6, який секретується нейтрофілами, моноцитами та макрофагами при стимуляції Toll-подібних рецепторів (Schmidt-Arras et al., 2016).

Результати проведених нами досліджень засвідчують підвищення рівня інтерлейкіну-6 лише в сироватці крові щурів, яким вводили токсичні дози ацетамінофену (ТУ та ННР+ТУ) в 3 та 5 разів відповідно порівняно зі значеннями контролю (рис. 4). Біологічна роль IL-6, в першу чергу, полягає в індукції відновлювальних механізмів та активації імунного захисту

(активація та диференціювання Т-клітин, дозрівання В-клітин, синтез С-реактивного білка у печінці, посилення гемопоезу).

Підвищення рівня інтерлейкіну-6 дозволяє спрогнозувати можливий розвиток «цитокінової бурі». Це патологічна реакція імунної системи, яка не захищає організм, а неконтрольовано активує цитокінами імунні клітини у вогнищі запалення. Надлишкова продукція інтерлейкіну-6 може викликати пошкодження тканин внаслідок аутоімунної реакції. Так, запальні цитокіни проникають у кровоплин, викликаючи системні цитокінові бурі та, зрештою, поліорганну дисфункцію. У цьому випадку IL-6 впливає на процес зсідання крові, викликаючи ДВС-синдром. Дане припущення узгоджується із результатами досліджень наукової групи щодо порушення тромбоцитарної та коагуляційної ланок системи гемостазу за даних експериментальних умов.

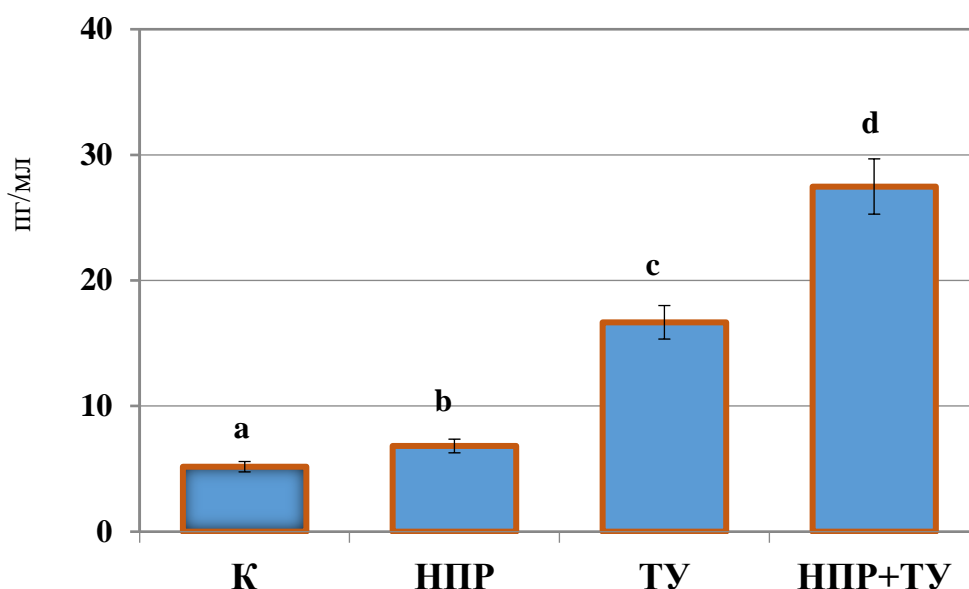


Рис. 4. Рівень інтерлейкіну-6 (IL-6) в сироватці крові щурів за умов токсичного ураження на тлі аліментарної депривації протеїну

Fig. 4. The level of interleukin-6 (IL-6) in the blood serum of rats under conditions of toxic damage against the background of alimentary protein deprivation

Висновки. Отже, токсичне ураження ацетамінофеном на тлі аліментарної нестачі протеїну супроводжується максимальним підвищенням рівня С-реактивного білка та прокальцитоніну в сироватці крові щурів, що

можна розглядати як прогностичні біомаркери системної запальної реакції. Водночас за даних експериментальних умов зареєстрована гіперпродукція фактора некрозу пухлини-альфа та інтерлейкіну-6.

Список літератури / References:

1. Batool R., Butt M.S., Sultan M.T., Saeed F., Naz R. Protein-energy malnutrition: a risk factor for various ailments. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2015; 55(2):242-253. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.651543>.
2. Chiew A.L., Glud C., Brok J., Buckley N.A. Interventions for paracetamol (acetaminophen) overdose. *Cochrane Database Syst Rev.* 2018; 2(2):CD003328. <https://doi.org/10.1002/14651858>.
3. Dandona P., Nix D., Wilson M.F., Aljada A., Love J., Assicot M. Procalcitonin increase after endotoxin injection in normal subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014; 79:1605–1608.
4. Drevet S., Gavazzi G. Undernutrition of the elderly. *Rev Med Interne.* 2019; 40(10):664-669. <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2019.05.003>.
5. Kitada M., Ogura Y., Monno I., Koya D. The impact of dietary protein intake on longevity and metabolic health. *EBioMedicine.* 2019; 43:632-640. doi: 10.1016/j.ebiom.2019.04.005
6. Kopylchuk H. P., Nykolaichuk I. M., Lylyk I. S. Indexes of citrulline metabolism in rat liver under the toxic injury against the background of alimentary protein deficiency. *Ukr. Biochem. J.* 2020; 92(1). P 113-119.
7. Kopylchuk H., Nikolaychuk I., Voloshchuk O., Motrich A., Konovchuk O. Biochemical and laser-polarimetric markers of hepatocyte cytolysis syndrome under conditions of toxic damage and protein deficiency. *Proc. SPIE.* 2021; 12126, <https://doi.org/10.1117/12.2617041>
8. Kopylchuk H., Nykolaichuk I., Motrich A., Ushenko O. Algorithm for diagnosing pancreatic endocrine dysfunction based on biochemical and laser polarimetric parameters. *Proc. SPIE* 2021; 12126, 121261Z <https://doi.org/10.1117/12.2616526>
9. Li H.Y., Tang Z.M., Wang Z., et al. C-Reactive Protein Protects Against Acetaminophen-Induced Liver Injury by Preventing Complement Overactivation. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2022; 13(1):289-307. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2021.09.003>.
10. Lind T., Lind P.M., Hu L., Melhus H. Studies of indirect and direct effects of hypervitaminosis A on rat bone by comparing free access to food and pair-feeding. *Ups J Med Sci.* 2018; 123(2):82-85. <https://doi.org/10.1080/03009734.2018.1448020>.
11. Lu S., Wang Y., Liu J. Tumor necrosis factor- α signaling in nonalcoholic steatohepatitis and targeted therapies. *J Genet Genomics.* 2022; 49(4):269-278. <https://doi.org/10.1016/j.jgg.2021.09.009>.
12. Mandato C., Di Nuzzi A., Vajro P. Nutrition and Liver Disease. *Nutrients.* 2017; 10(1):9. <https://doi.org/10.3390/nu10010009>.
13. Mastronuzzi T., Grattagliano I. Nutrition as a Health Determinant in Elderly Patients. *Curr Med Chem.* 2019; 26(19): 3652-3661. <https://doi.org/10.2174/09298673246661705231258>
14. McFadyen J.D., Kiefer J., Braig D., et al. Dissociation of C-Reactive Protein Localizes and Amplifies Inflammation: Evidence for a Direct Biological Role of C-Reactive Protein and Its Conformational Changes. *Biological systems.* Vol.15. Is.2. 2023

- Front Immunol.* 2018; 9:1351
15. Normandin P.A., Benotti S.A., Mullins M.A. Hidden Danger: Pediatric Acetaminophen Overdose Unintentional and Intentional Emergencies. *J Emerg Nurs.* 2020; 46 (6):914-922. <https://doi.org/10.1016/j.jen.2020.06.015>
 16. Oh J., Teoh H., Leiter L.A. Should C-reactive protein be a target of therapy? *Diabetes Care.* 2011; 34:155-160. <https://doi.org/10.2337/dc11-s211>.
 17. Pellicoro A., Ramachandran P., Iredale J.P., Fallowfield J.A. Liver fibrosis and repair: immune regulation of wound healing in a solid organ. *Nat Rev Immunol.* 2014; 14:181–194
 18. Ramachandran A., Jaeschke H. Acetaminophen Hepatotoxicity. *Semin Liver Dis.* 2019; 39(2):221-234. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1679919>.
 19. Reeves P.G., Nielsen F.H., Fahey G.C. Jr. AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr.* 1993; 123(11): 1939–1951.
 20. Sato S., Tsuzura H., Ikeda Y., Hayashida S., et al. Elevated serum procalcitonin levels and their association with the prognosis of patients with liver cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 2020; 32(9): 1222-1228. <https://doi.org/10.1097/MEG.0000000000001644>.
 21. Schmidt-Arras D., Rose-John S. IL-6 pathway in the liver: From physiopathology to therapy. *J Hepatol.* 2016; 64(6):1403-1415. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2016.02.004>.
 22. Schwabe R.F., Brenner D.A. Mechanisms of Liver Injury. I. TNF-alpha-induced liver injury: role of IKK, JNK, and ROS pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006; 290(4):583-589. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00422.2005>.
 23. Solon-Biet S.M., Mitchell S.J., Coogan S.C., et al. Dietary Protein to Carbohydrate Ratio and Caloric Restriction: Comparing Metabolic Outcomes in Mice. *Cell Rep.* 2015; 11(10):1529-34. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2015.05.007>.
 24. Tilg H., Moschen A.R. Insulin resistance, inflammation, and non-alcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol. Metab.* 2008; 19:371–379
 25. van der Heijden R.A., Sheedfar F., Morrison M.C., et al. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6j mice. *Aging (Albany NY).* 2015; 7(4):256-268. <https://doi.org/10.18632/aging.100738>.

MARKERS OF INFLAMMATION IN RATS UNDER TOXIC INJURY AGAINST DIETARY PROTEIN DEFICIENCY

H. P. Kopylchuk, I. M. Nykolaichuk, M.V. Nikorych

*Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University,
Ukraine, 58012, Chernivtsi, Kotsiubynsky 2 Str.
g.kopilchuk@chnu.edu.ua*

The paper presents studies of biomarkers of the development of inflammatory reactions in the blood serum of rats under the conditions of toxic damage with acetaminophen against the background of dietary protein deficiency.

The animals consumed a semi-synthetic diet during the experiment according to the recommendations of the American Institute of Nutrition. In order to simulate alimentary protein deprivation, rats received a low-protein diet containing 1/3 of the standard daily protein requirement daily for 28 days. The animals were modeled acute toxic damage with acetaminophen after four weeks of experimental diet. The administration of the toxin was carried out at doses of 1250 mg/kg animal body weight in suspension in 2 % starch gel solution once a day for 2 days by gavage. Determination of the level of C-reactive protein, procalcitonin, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6 in the blood serum of rats was carried out by the method of immunoenzymatic analysis.

We have established that toxic damage by the drug xenobiotic - acetaminophen against the background of dietary protein deficiency is accompanied by a maximum increase in the level of C-reactive protein (15.5 times) and procalcitonin (10 times) in the blood serum of rats compared to the control value, which can be considered as prognostic biomarkers of the systemic inflammatory reaction under these experimental conditions.

At the same time, under these experimental conditions, hyperproduction of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 was registered in the blood serum of experimental groups of rats with maximum values when toxic doses of acetaminophen were administered to protein-deficient animals, which is consistent with changes in the level of C-reactive protein and procalcitonin.

The fact we found makes it possible to assume that dietary protein deprivation increases the production of TNF-α and IL-6 as pro-inflammatory mediators in toxic liver damage, thus inducing primary damage to liver parenchymal cells.

Keywords: C-reactive protein, procalcitonin, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, dietary protein deprivation, acetaminophen

Отримано редколегією 28.10.2023 р.