

- О.М.Гаврилук //Патологія.- 2011.- Т.8, №1.- С.83-85.
- Герашенко С.Б. Значення комп'ютерної морфометрії в діагностиці хронічного гепатиту з синдромом холестазу /С.Б.Герашенко, О.І.Дельцова, А.Д.Захарич //Вісник проблем біол. і мед.- 2011.- Вип.2, Т.2.- С.52-55.
- Гнатюк М.С. Морфофункціональні особливості секреторної активності міокарда при токсических поражениях /М.С.Гнатюк, А.М.Пришляк // Нейроэндокринология.- Санкт-Петербург: Аграф, 2005.- С.148-150.
- Ковалёв Г.А. Экспериментальная модель алкогольного поражения печени у самок крыс /Г.А.Ковалёв, А.Ю.Петренко //Вісник Харківського нац. унів.-та.- 2004.- №617.- С.15-18.
- Кореляційні паралелі в оптимізації діагностики фіброзу печінки /Е.В.Зигало, Т.В.Майкова, Н.Г.Гравіровська [та ін.] //Науковий вісник Ужгородського унів., серія "Медицина".- 2011.- №2 (41).- С.308-311.
- Наконечна С.С. Дослідження впливу густого екстракту фіалки на морфологічну структуру печінки щурів за умов гострого тетрахлорметанового гепатиту /С.С.Наконечна, С.М.Марчишин, В.П.Пида //Здобутки клініч. і експерим. мед.- 2014.- С.79-83.
- Скрипник І.М. Комплексна оцінка впливу глутаргіну на функціональний стан печінки у хворих на хронічний токсичний гепатит алкогольної етіології /І.М.Скрипник, Г.В.Невойт, І.І.Дегтярьова //Гастроентерология.- 2012.- Т.6, №3.- С.22-24.
- Хухліна О.С. Зміни показників сполучної тканини у хворих на стеатогепатит алкогольного та неалкогольного генезу та їх корекція глутаргіном /О.С.Хухліна //Лікар. справа.- 2004.- №7.- С.25-28.
- Rykalo N. A. Research of the anticytolytic and anticholestatic activity of thiotriazoline and quercetin in chronic drug-induced hepatitis in immature rats /N.A.Rykalo, O.V.Androschuk //Клініч. фармація.- 2013.- Т.17, №4.- С.38-40.

**Рыкало Н.А., Яровенко Л.А.**

#### МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА В УСЛОВИЯХ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ И ПРИ КОРРЕКЦИИ КВЕРЦЕТИНОМ И L-АРГИНИН L-ГЛУТАМАТОМ

**Резюме.** Установлено, что в условиях экспериментальной хронической алкогольной интоксикации у крыс разного возраста, развивается поражение печени, основой которого является некротическо-дистрофические изменения с преобладанием жировой и белковой паренхиматозной дистрофии. Разрушение гепатоцитов вследствие жировой дистрофии имеет более локальный характер у старых крыс, по сравнению с неполовозрелыми и молодыми половозрелыми. После проведенной патогенетической коррекции кверцетином и L-аргинином L-глутаматом отмечалась морфологическая картина, которая в ряде случаев характеризовалась меньшей интенсивностью некротическо-дистрофических изменений, что подтверждает их положительное действие. Полученные результаты исследований свидетельствуют о более выраженном гепатопротекторном эффекте L-аргинина L-глутамата при экспериментальном хроническом алкогольном повреждении печени по сравнению с кверцетином.

**Ключевые слова:** печень, хроническое алкогольное повреждение, фиброз, морфологические исследования.

**Rykalo N.A., Yarovenko L.A.**

#### PATHOLOGICAL CHANGES IN RATS LIVER OF DIFFERENT AGES WITH CHRONIC ALCOHOL INTOXICATION AND AFTER CORRECTION BY QUERCETIN AND L-ARGININE-L-GLUTAMATE

**Summary.** Established that under conditions of experimental chronic alcoholic intoxication in rats of different ages develop liver disease, which is based on necrotic and dystrophic changes with prevalence of fat and protein intracellular degeneration. The hepatocytes destruction caused by pulverulent fat and intracellular protein degenerations have more locally character in the old animals in compare with the immature and mature young animals. After pathogenetic correction by quercetin and L-arginine-L-glutamate was observed next morphological changes, which in some cases were characterized by lower intensity of necrotic and dystrophic change and a decrease in collagen fibers, which confirm the positive impact of the selected remedy. The obtained results show that L-arginine-L-glutamate has more hepatoprotective effect in rats with chronic alcoholic liver disease, compared with quercetin.

**Key words:** liver, chronic alcoholic liver disease, fibrosis, morphological study.

**Рецензент:** д.мед.н., професор Костюк Г.Я.

Стаття надійшла до редакції 20.05.2015 р.

Рыкало Надія Анатоліївна - д.мед.н., доцент, завідувач кафедри патологічної фізіології ВНМУ ім.М.І.Пирогова; rikalo77@mail.ru  
Яровенко Людмила Олександрівна - ст. лаборант кафедри патологічної фізіології Вінницького національного медичного університету ім.М.І.Пирогова; + 38 096 870-43-51; yarovenk\_o@mail.ru

© Бабий А.М.

УДК: 591.4+616.37+599.323.001.6

**Бабий А.М.**

ГУ "Институт гастроэнтерологии НАМН Украины" (просп. Правды, 96, г.Днепропетровск, 49000, Украина)

## ВЛИЯНИЕ ИЗБЫТКА ОКСИДА АЗОТА НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У КРЫС В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

**Резюме.** Исследование проведено на 40 крысах-самцах линии Wistar после ежедневного внутрибрюшинного введения донатора готовых молекул оксида азота (NO) натрия нитропруссиды производства "Реахим" (Украина) в дозе 1,5 мг/кг через 1 сутки (n=6); 2 суток (n=6); 6 суток (n=6); 12 суток (n=6); 30 суток (n=6). Установлено, что избыточное поступление NO приводит к морфологическим изменениям поджелудочной железы (ПЖ): вазодилатации со стазом форменных элементов крови через 1 и 2 суток; очаговому некрозу, деструкции ацинарной ткани, дилатации протоков с ухудшением оттока

секрета ПЖ через 6 суток; жировой дистрофии, сегментарному апоптозу через 12 суток; компенсированным микроциркуляторным изменениям в органе, формированию фиброзной ткани в перидуктулярной и перивазальной зонах с проникновением в междольковое пространство через 30 суток. В сыворотке крови наблюдалось нарушение экзокринной функции ПЖ: повышение активности панкреатических энзимов - *амилазы* и *трипсина* до 6 суток, а через 30 суток - достоверное снижение; повышение уровня биохимических маркеров фиброза и развитие инкреторной недостаточности, то есть изменения, характерные для хронического экспериментального панкреатита.

**Ключевые слова:** оксид азота, натрия нитропруссид, поджелудочная железа, экспериментальный панкреатит, фиброз.

## Введение

Оксид азота (NO) образуется из L-аргинина под воздействием P-450-подобных ферментов, вызванных NO-синтетазами, является высокоактивным и нестабильным соединением. Это жирорастворимый газ, который легко проникает через клеточные мембраны, с кратковременной жизнью до нескольких секунд, подвергается процессам окисления с переходом в нитриты и нитраты [Лазебник и др., 2005].

Ведущие панкреатологи всего мира в процессе дискуссий пришли к выводу, что панкреатит является мультифакторным заболеванием, при котором остаются до конца неизученными патогенетические механизмы развития патологических изменений в ПЖ и участия NO в этом процессе [Hegyi et al., 2004; Bryan et al., 2009]. NO осуществляет межклеточную коммуникацию и регуляцию важных физиологических функций, таких как вазодилатация, нейротрансмиссия, снижение агрегации тромбоцитов, активацию процессов запоминания, регуляцию тонуса гладких мышц, влияет на перекисное окисление липидов (ПОЛ) во время развития воспалительных процессов [Метельская, Гуманова, 2005; Винокурова и др., 2011].

В желудочно-кишечном тракте NO регулирует микроциркуляцию, секрецию и моторику. NO является главным ингибиторным медиатором, который обеспечивает расслабление гладкой мускулатуры пищевода, желудка, тонкой и толстой кишок, желчного пузыря, сфинктера Одди. С другой стороны, вступая в реакцию с кислородом, NO образует пероксинитрит и принимает участие в формировании воспалительных процессов в желудке, ПЖ и кишечнике [Степанов и др., 2012]. Негативное влияние NO начинает проявляться при резком изменении его суммарной концентрации, приводя к функциональному и структурному повреждению органа. Полиморфизм проявления его влияния связан с присутствием в пищеварительной системе разных форм NO-синтаз [Загребельная, 2009].

В исследованиях Винокуровой Л.В. [Винокурова и др., 2011] показана прямая корреляционная связь между повышением уровня NO в сыворотке крови пациентов и обострением хронического панкреатита (ХП). Таким образом, увеличение уровня NO связано с активацией процессов ПОЛ, который в свою очередь может приводить к усилению поражений ПЖ. Правомерным является создание новой модели экспериментального ХП, которая основывается на нарушении баланса NO-эргичной системы регуляции путем введения донатора NO. Использование натрия нитропрусси-

да предусматривает его как донатора готовых молекул NO, который не синтезируется в клетках и является экзогенным источником NO. ХП у животных трудно воссоздать, поскольку сложно имитировать характерные клинические или морфологические особенности, так как развитие патологии вызывается нарушениями не только на морфологическом, но и на функциональном уровнях.

*Цель* исследования - в эксперименте на крысах определить морфофункциональное состояние поджелудочной железы (ПЖ) на фоне избытка NO, вызванного введением натрия нитропрусида как донатора готовых молекул NO.

## Материалы и методы

Автор выражает особую благодарность зав. лабораторией патофизиологии, к.б.н. А.И.Руденко за помощь в проведении экспериментальных исследований; зав. лабораторией патоморфологии, д.м.н. Ю.А.Гайдаруи научному сотруднику Н.Ю.Ошмянской за помощь в проведении морфологических исследований панкреатобиоптатов; старшему научному сотруднику лаборатории биохимии, к.биол.н. В.А.Макарчук в проведении биохимических исследований сыворотки крови.

Исследование проведено на 40 лабораторных белых крысах-самцах линии Wistar весом 180-230 г. после ежедневного внутрибрюшинного введения донатора готовых молекул оксида азота (NO) натрия нитропрусида производства "Реахим" (Украина) в дозе 1,5 мг/кг через 1 сутки (n=6); 2 суток (n=6); 6 суток (n=6); 12 суток (n=6); 30 суток (n=6). Животных выводили из эксперимента разовым введением летальной дозы кетамина (200 мг/кг). Контрольную группу (n=10) составляли интактные крысы, которым внутрибрюшинно вводили 0,9% раствор NaCl в течение 1, 2, 6, 12 и 30 суток.

Исследования проводили, придерживаясь нормативов Конвенции по биоэтике Совета Европы (1997), Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются для экспериментальных и других научных исследований, общих этических принципов экспериментов на животных, принятых законом Украины (№ 1759 - VI от 15.12.2009 г.) "О защите животных от жестокого обращения".

Для выполнения гистологических исследований ПЖ фиксировали в 10,0% растворе нейтрального забуференного формалина. Биоптаты обезжизняли в спиртах восходящей концентрации и заливали в парафин. Гистологические срезы толщиной 3-5 мкм окрашива-

ли гематоксиліном, еозинном и по Маллори в модифікації Слинченко.

Биохимические процессы фиброгенеза оценивали по содержанию в сыворотке крови оксипролина свободного (ОПсв), оксипролина белковосвязанного (ОПб/св) [Осадчук, Капустин, 1987] и гексозаминов (ГА) [Горячковский, 1998]. Продукцию NO определяли по суммарному содержанию нитритов/нитратов в сыворотке крови с помощью реактива Гриса [Метельская, Гуманова, 2005]. Для оценки внешнесекреторной функции ПЖ в сыворотке крови определяли активность панкреатических энзимов:  $\alpha$ -амилазы набором фирмы "Филисит-диагностика" и трипсина - по Эрлангеру в модификации Шатерникова [Камышников, 2002].

Состояние инкреторной функции ПЖ исследовали с помощью определения в сыворотке крови уровня глюкозы набором фирмы "Филисит-диагностика".

С целью оптимизации математической обработки полученные выходные данные вводили в базу данных, построенную с помощью электронных таблиц Microsoft Excel 2010 на персональном компьютере системы Pentium-400 под управлением оболочки Windows XP.

### Результаты. Обсуждение

Морфологический анализ показал, что через 1 и 2 суток после начала эксперимента в ткани ПЖ у всех крыс отмечались дилатация сосудов и протоков, накопление и застой секрета от незначительной до умеренной степени выраженности.

Через 6 суток после внутрибрюшинного введения донатора NO натрия нитропруссиды отмечались признаки панкреатита, структурной основой которого являлись характерные для воспаления - инфильтрация стромы лимфоцитами и нейтрофильными лейкоцитами, дилатация сосудов и внутридольковых протоков, стаз клеток крови. В 66,6% всех случаев обнаружены крупные группы ацинарных клеток в состоянии гиперсекреции, а в 75,0% случаев среди этих клеток встречаются единичные мелкие очаги некроза.

Через 12 суток - явления полнокровия сосудов ПЖ и стаза форменных элементов крови становились наиболее выраженными. Во всех случаях строма была диффузно инфильтрирована клетками воспаления, отмечалось избыточное накопление секрета в ацинарных клетках, встречался сегментарный апоптоз ацинарной ткани. У 66,6% животных развивалась очаговая мелко- и крупнокапельная жировая дистрофия.

Несмотря на выраженную воспалительную активность, которая отмечалась через 12 суток после начала эксперимента, у всех животных, которые были выведены через 30 суток ежедневного введения натрия нитропруссиды, микроциркуляторные изменения были почти полностью компенсированы. Диаметр сосудов не отличался от группы сравнения, инфильтрация либо не определялась, либо была скудной. При этом, на фоне спокойной ацинарной ткани в 83,3% всех случаев от-

мечалась дилатация междольковых протоков и развитие соединительной ткани. Рыхлая фиброзная ткань обволакивала магистральные протоки и крупные сосуды, проникала в междольковое пространство.

Развитие панкреатита у крыс, вызванное введением донатора NO натрия нитропруссиды, сопровождалось изменениями биохимических показателей крови, характеризующих процессы метаболизма коллагена. Так, об анаболизме соединительной ткани после 30 суток свидетельствовал рост содержания ОПб/св в 1,4 раза с  $(179,28 \pm 9,19)$  мкмоль/л (контрольная группа) до  $(243,81 \pm 15,35)$  мкмоль/л ( $p < 0,01$ ), а о катаболизме - рост ОПсв в 1,5 раз до  $(16,37 \pm 1,39)$  мкмоль/л ( $p < 0,01$ ) и в 1,8 раз до  $(18,01 \pm 3,27)$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) после 12 и 30 суток соответственно, по сравнению с контролем  $(9,96 \pm 0,71)$  мкмоль/л, что указывало на усиленный синтез и распад коллагена (табл. 1, 2). Следует отметить, что концентрация ОПб/св в крови экспериментальных животных после 30-суточного введения препарата была достоверно выше, чем при 1-дневном ( $p < 0,01$ ), 2-дневном ( $p < 0,05$ ) и 6-дневном ( $p < 0,05$ ) введении.

Повышение содержания ГА в крови свидетельствовало об усилении распада углеводно-белковых компонентов соединительной ткани, поскольку ГА входят в состав, как протеогликанов, так и гликопротеинов - ее составляющих. Увеличение содержимого ГА является фактором, характеризующим воспаление. Длительный воспалительный процесс в ткани ПЖ вызывает ее деструкцию. Ведущую роль в деструкции ткани ПЖ играют протеолитические энзимы полиморфноядерных лейкоцитов, под действием которых происходит распад макромолекулярных комплексов, которые содержат ГА. Вероятно, ГА являются индукторами фиброза и увеличение их содержания опережает изменения других показателей, которые характеризуют морфогенез соединительной ткани. Так, содержание ГА в крови крыс через 6 суток после введения донатора NO натрия нитропруссиды увеличилось в 1,4 раза до  $(6,05 \pm 0,06)$  г/л ( $p < 0,001$ ), через 12 суток - в 1,5 раза до  $(6,42 \pm 0,17)$  г/л ( $p < 0,001$ ), а через 30 суток - в 1,8 раза до  $(7,73 \pm 0,06)$  г/л ( $p < 0,001$ ), по сравнению с группой контроля  $(4,27 \pm 0,18)$  г/л. Концентрация данного показателя в последней группе животных была достоверно выше, чем при 1-дневном ( $p < 0,001$ ), 2-дневном ( $p < 0,01$ ), 6-дневном ( $p < 0,001$ ) и 12-дневном ( $p < 0,001$ ) введении препарата.

Спустя 1 и 2 сутки после введения натрия нитропруссиды отмечалось резкое снижение в крови концентрации нитритов/нитратов в 2,9 раза до  $(11,34 \pm 0,24)$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ) и до  $(11,21 \pm 2,36)$  мкмоль/л ( $p < 0,01$ ) соответственно, по сравнению с группой контроля  $(32,61 \pm 4,55)$  мкмоль/л. Уже через 6 суток наблюдалось резкое увеличение содержания в крови метаболитов NO в 1,8 раз до  $(57,1 \pm 7,28)$  мкмоль/л ( $p < 0,05$ ) с последующим постепенным его снижением через 30 суток - в 3,7 раз до  $(8,75 \pm 3,16)$  г/л ( $p < 0,001$ ). Концентрация

**Таблиця 1.** Біохімічні показателі в сировотці крові крыс через 1 і 2 сутки після введення натрія нітропруссіда.

Показатели, ед. измерения	Контрольная группа (n=10)	1 сутки / 1,5 мг (n=6)	2 сутки / 1,5 мг (n=6)
Нитриты/нитраты, мкмоль/л	32,61±4,55	11,34±0,14***	11,21±2,09***
α-Амилаза, мг/с·л	96,02±11,72	111,27±15,23	142,58±40,20
Трипсин, мкмоль/мл·хв	4,19±0,92	4,69±0,30	7,50±2,18
ОПб/св, мкмоль/л	179,28±9,19	170,50±11,76	178,35±12,35
ОПсв, мкмоль/л	9,96±0,77	10,49±1,02	11,55±1,35
ГА, г/л	4,27±0,34	4,27±0,36	5,53±0,41
Глюкоза, ммоль/л	3,18±0,42	3,20±0,38	3,25±0,24

**Таблиця 2.** Біохімічні показателі в сировотці крові крыс через 6, 12 і 30 сутки після введення натрія нітропруссіда.

Показатели, ед. измерения	6 сутки / 1,5 мг (n=6)	12 сутки / 1,5 мг (n=6)	30 сутки / 1,5 мг (n=6)
Нитриты/нитраты, мкмоль/л	57,1±7,06*	21,34±4,69 <sup>oo</sup>	8,75±1,96*** <sup>ooo</sup>
α-Амилаза, мг/с·л	209,41±38,50*	164,80±66,68	65,75±8,03 <sup>ooo</sup>
Трипсин, мкмоль/мл·хв	8,65±1,64*	5,70±0,49	3,91±0,93 <sup>o</sup>
ОПб/св, мкмоль/л	183,62±13,66	196,59±15,03	243,81±15,35*** <sup>###xxx</sup>
ОПсв, мкмоль/л	13,15±2,57	16,37±1,39**	18,01±3,37*
ГА, г/л	6,05±0,44**	6,42±0,19***	7,73±0,06*** <sup>###xxxooo</sup>
Глюкоза, ммоль/л	3,42±0,29	4,34±0,30 <sup>#</sup>	5,37±0,38*** <sup>###xxx</sup>

**Примечания:** 1. \* - (p<0,05), \*\* - (p<0,01) та \*\*\* - (p<0,001) - достовірний розрив між групою контролю та групою з 1-суточним, 2-суточним, 6-суточним, 12-суточним і 30-суточним введенням препарату; 2. # - (p<0,05), ## - (p<0,01) і ### - (p<0,001) - достовірний розрив між групами з 1-суточним і 12- і 30-суточним введенням препарату; 3. x - (p<0,05), xx - (p<0,01) і xxx - (p<0,001) - достовірний розрив між групами з 2-суточним і 30-суточним введенням препарату; 4. o - (p<0,05), oo - (p<0,01) та ooo - (p<0,001) - достовірний розрив між групами з 6-суточним і 12-суточним, 30-суточним введенням препарату.

нітритів / нітратів в крові тварин після 6 сутки введення препарату була достовірно вище, ніж через 12 сутки (p<0,01) і 30 сутки (p<0,001).

Після 1 сутки введення препарату спостерігалося поступове збільшення активності α-амілази в крові, яка досягала свого максимуму через 6 сутки - збільшилася в 2,2 рази з (96,02±11,72) мг/с·л (контроль) до (209,41±38,50) мг/с·л (p<0,05). Однак, через 30 сутки значно знизилася активність даного ферменту в 1,5 рази до (65,75±8,03) мг/с·л (p<0,05). Відзначалося достовірне розрив в активності α-амілази між групами з 6-денним і 30-денним введенням донатора NO натрія нітропруссіда (p<0,05).

Трипсин є оптимальним маркером для екск-

реторної активності ПЖ, так як він специфічний для цього органу. Активність даного ферменту змінювалася аналогічно активності α-амілази: достовірне збільшення в 2,1 рази через 6 сутки з (4,19±0,92) мкмоль/мл·хв (контроль) до (8,65±1,64) мкмоль/мл·хв (p<0,05) і поступове зниження до показателя групи контролю через 30 сутки. Активність трипсину в крові експериментальних тварин з 30-суточним введенням препарату була достовірно нижче, ніж при 6-суточному його введенні (p<0,05).

Розвиток експериментального панкреатиту при введенні донатора NO натрія нітропруссіда супроводжалося у експериментальних тварин поступовим порушенням вуглеводного обміну. Спостерігалося достовірне збільшення в 1,4 рази концентрації глюкози в сировотці крові з (3,18±0,42) ммоль/л (контроль) до (4,34±0,30) ммоль/л (p<0,05) і в 1,7 рази до (5,37±0,38) ммоль/л (p<0,01) відповідно через 12 і 30 сутки введення препарату, т.е. відзначалося порушення інкреторної функції ПЖ.

Через 1 і 2 сутки після введення донатора NO натрія нітропруссіда в сировотці крові відзначалося достовірне збільшення метаболітів NO (p<0,001), прослідковувалася тенденція до підвищення активності панкреатических ферментів - α-амілази і трипсину. Морфологічно відзначалося дилатація судин і протоків, накоплення і застої секрету в ПЖ.

Через 6 сутки відзначалося максимальне підвищення в сировотці крові активності панкреатических ферментів, α-амілази (p<0,05) і трипсину (p<0,05), рівня метаболітів NO (p<0,05) і спостерігалося поступове підвищення концентрації ГА (p<0,001). Морфологічні дослідження ПЖ підтверджували розвиток панкреатиту, структурною основою якого є ознаки запалення - інфільтрація стромы накопленням лімфоцитів і лейкоцитів, дилатація судин зі стазом формених елементів крові і розширенням внутрішньозовнішніх протоків з надмірним накопленням секрету в ацинарних клітках, єдиничні дрібні некрози.

Через 12 сутки відзначалося тенденція до зниження в сировотці крові активності α-амілази і трипсину, достовірне зниження концентрації метаболітів NO в порівнянні з 6 сутками (p<0,01). Спостерігалося значне підвищення концентрації ОПб/св, ОПсв (p<0,01) і ГА (p<0,001). Морфологічно зберігалася стромальна інфільтрація і вазодилатація. К цим змінам приєдналася очагова жировая дистрофія і сегментарний апоптоз ацинарних кліток.

Через 30 сутки в сировотці крові одночасно відзначалося максимальне підвищення маркерів синтезу колагену - ОПб/св (p<0,01), розпаду колагену - ОПсв (p<0,05) і ГА (p<0,001), розвивалася функціональна недостатність ПЖ, яка проявлялася різким зниженням активності панкреатических ферментів - α-амілази (p<0,05) і трипсину (p<0,05). Зниження кон-

центрации метаболитов NO (нитритов / нитратов) наблюдалось после 1 ( $p < 0,001$ ) и 2 ( $p < 0,001$ ) суток натрия нитропруссид, а далее происходило их постепенное повышение с максимальным значением после 6 суток ( $p < 0,05$ ) и последующим постепенным снижением - с минимальным значением через 30 суток ( $p < 0,001$ ). Через 30 суток введения препарата морфологические микроциркуляторные изменения в ПЖ компенсировались, диаметр сосудов не отличался от группы сравнения. Однако, отмечалась дилатация междольковых протоков, в перидуктулярной зоне начинали формироваться тяжи фиброзной ткани. Рыхлая фиброзная ткань окутывала магистральные протоки, крупные сосуды и проникала в междольковое пространство, что является характерным в развитии ХП.

### Выводы и перспективы дальнейших разработок

1. Избыточное поступление готовых молекул NO путем внутривенного введения натрия нитропруссид приводит к морфологическим изменениям ПЖ: вазодилатации со стазом форменных элементов крови через 1 и 2 сутки, очаговому некрозу, деструкции ацинарной ткани, дилатации протоков с ухудшением

оттока секрета ПЖ через 6 суток, жировой дистрофии, сегментарному апоптозу через 12 суток и к морфологически компенсированным микроциркуляторным изменениям в органе, формированию фиброзной ткани в перидуктулярной и перивазальной зонах с проникновением в междольковое пространство через 30 суток, что характерно для развития ХП.

2. При избыточном поступлении NO в сыворотке крови наблюдается нарушение экзокринной функции ПЖ, которое до 6 суток проявляется повышением в крови панкреатических ферментов - амилазы и трипсина, а через 30 суток эксперимента - их достоверным снижением; повышение биохимических маркеров фиброза (ОПб/св, ОПсв и ГА) и развитие инкреторной недостаточности, то есть наступление изменений, которые характерны для хронического экспериментального панкреатита.

Полученные результаты указывают на целесообразность продолжения последующего изучения морфофункционального состояния ПЖ при избыточном поступлении готовых молекул NO в длительном временном промежутке, что на фоне развития гипоксии паренхимы ПЖ может привести к трансформации в аденокарциному.

### Список литературы

- Горячковський О.М. Клінічна біохімія: Довідковий посібник /Горячковський О.М.. Вид. 2-е, вип. і доп.- Оdesa: Астропринт, 1998.- 608с.
- Диагностическое значение оксида азота и малонового диальдегида в диагностике обострения хронического панкреатита /Л.В.Винокурова, О.И.Березина, В.Н.Дроздов [и др.] //Лечащий врач.- 2011.- №2.- С.39-43.
- Загребельная И.В. Применение оксида азота в медицинской практике /И.В.Загребельная //Междун. мед. журнал.- 2009.- №4.- С.100-104.
- Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике: В 2 т. Т2.- 2-е изд.- Беларусь, 2002.- С.75-77.
- Лазебник Л.Б. Роль оксида азота (NO) в этиопатогенезе некоторых заболеваний органов пищеварения /Л.Б.Лазебник, В.Н.Дроздов, Е.Н.Барышников //Эксперим. и клин. гастроэнтерология.- 2005.- №2.- С.4-11.
- Метельская В.А. Оксид азота: роль в регуляции биологических функций, методы определения в крови человека /В.А.Метельская, Н.Г.Гуманова //Лаб. медицина.- 2005.- №7.- С.19-24.
- Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови /В.А.Метельская, Н.Г.Гуманова //Клин. лаб. диагностика.- 2005.- №6.- С.15-18.
- Осадчук М.А. Белковосвязанный оксипролин плазмы крови при остром вирусном гепатите /М.А.Осадчук, В.М.Капустин //Лаб. дело.- 1987.- №7.- С.16-18.
- Степанов Ю.М. L-аргинин: свойства, применение в медицине, токсичность и аргинин-индуцированное поражение поджелудочной железы /Ю.М.Степанов, И.В.Твердохлеб, О.Ю.Сиренко //Сучасна гастроентерол.- 2012.- №3 (65).- С.63-70.
- Bryan N.S. Discovery of the nitric oxide signaling pathway and targets for drug development /N.S.Bryan, K.Bian, F.Murad //Frontiers in Bioscience.- 2009.- Vol.14.- P.1-18.
- L-arginine-induced experimental pancreatitis /P.L.Hegyı, Z.J.Rakoncay, R.Sari [et al.] //World J. Gastroenterology.- 2004.- №10 (14).- P.2003-2009.

**Бабій О.М.**

### ВПЛИВ НАДЛИШКУ ОКСИДА АЗОТУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПІДШЛУНКОВОЇ ЗАЛОЗИ У ЩУРІВ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Резюме.** Дослідження проведено на 40 щурах-самцях лінії Wistar після щоденного внутрішньочеревинного введення донатора готових молекул оксиду азоту (NO) натрію нитропруссиду у дозі 1,5 мг/кг через 1 добу ( $n=6$ ); 2 доби ( $n=6$ ); 6 діб ( $n=6$ ); 12 діб ( $n=6$ ); 30 діб ( $n=6$ ). Встановлено, що надмірне надходження NO призводить до морфологічних змін в підшлунковій залозі: вазодилатації зі стазом формених елементів крові через 1 та 2 доби; осередкового некрозу, деструкції ацинарної тканини, дилатації протоків з погіршенням відтоку панкреатичного секрету через 6 діб; жирової дистрофії, сегментарному апоптозу через 12 діб; компенсованим мікроциркуляторним змінам в органі, формуванню фіброзної тканини в перидуктулярній та перивазальній зонах з проникненням у міждольковий простір через 30 діб. У сироватці крові відмічалось порушення екзокринної функції підшлункової залози: підвищення активності панкреатичних ферментів- $\alpha$ -амілази і трипсину до 6 доби, а через 30 діб - їх достовірне зниження, збільшення рівня біохімічних маркерів фіброзу (оксипроліну білковозв'язаного та гексозамінів), недостатність інкреторної функції - підвищення рівня глюкози, тобто зміни, характерні для хронічного експериментального панкреатиту.

**Ключові слова:** оксид азоту, нитропруссид натрію, підшлункова залоза, експериментальний панкреатит, фіброз.

**Babiy A.M.**

### THE EFFECT OF EXCESS NITRIC OXIDE IN THE MORPHO-FUNCTIONAL STATE OF THE PANCREAS IN RATS

**Summary.** The study was conducted in 40 male Wistar rats. Nitric oxide (NO) was administrated in the form of sodium nitroprusside

"Reahim" (Ukraine), at 1.5 mg / kg for 1 day (n = 6), 2 days (n = 6), 6 days (n = 6), 12 days (n = 6), and 30 days (n = 6). An epactal admission of NO leads to morphological changes of the pancreas: vasodilation with stasis of blood cells after 1 and 2 days; focal necrosis, destruction of acinar tissue, ductal dilatation with moderation of pancreatin outflow after 6 days; adipose degeneration, segmental apoptosis after 12 days; compensated microcirculatory changes, accompanied by the formation of fibrous tissue in periductal and perivascular areas with engaging of the interlobular space after 30 days. Biochemical tests shows signs of pancreatic dysfunction (exocrine): increased activity of pancreatic enzymes- $\alpha$ -amylase and trypsin after 6 days, and after 30 days - a significant decrease of enzymes activity, accompanied by the increasing of the biochemical markers of fibrosis in blood and the development of incretory dysfunction; that is, changes, indicative for development of chronic experimental pancreatitis.

**Key words:** nitric oxide, sodium nitroprusside, pancreas, experimental pancreatitis, fibrosis.

Рецензент: д.мед.наук, професор Шевченко Б.Ф.

Статья поступила в редакцию 8.04.2015 г.

Бабий Олександр Михайлович - к.мед.н., ст. наук. сп. відділу хірургії органів травлення ДУ "Інститут гастроентерології НАМН України"; +38 067 902-00-42; Aleksandr\_babiy@ukr.net

© Власова К.В., Давиденко І.С., Булик Р.Є.

УДК: 612.826.4.:591.147:591.044

Власова К.В.\*, Давиденко І.С.\*\*\*, Булик Р.Є.\*

Буковинський державний медичний університет, \*кафедра медичної біології та генетики, \*\*кафедра патологічної анатомії (вул. Федьковича, 15, м.Чернівці, 58022, Україна)

## ІМУНОГІСТОХІМІЧНИЙ АНАЛІЗ ЩІЛЬНОСТІ МЕЛАТОНІНОВИХ РЕЦЕПТОРІВ 1А ТИПУ В НЕЙРОНАХ СУПРАОПТИЧНОГО ЯДРА ГІПОТАЛАМУСА БІЛИХ ЩУРІВ ЗА ЗМІНЕНОГО ФОТОПЕРІОДУ

**Резюме.** У статті шляхом імуногістохімічного аналізу охарактеризовано щільність мелатонінових рецепторів 1а типу в нейронах супраоптичного ядра гіпоталамуса білих щурів і встановлено її чіткий циркадіанний ритм. У середньому найвища щільність рецепторів відмічається о 02.00 год доби, о 14.00 год вона суттєво знижується, а за умов пригнічення активності шишкоподібної залози порушується циркадіанний ритм функціонування мелатонінових рецепторів у нейронах супраоптичного ядра гіпоталамуса.

**Ключові слова:** гіпоталамус, супраоптичні ядра, нейрони, мелатонінові рецептори, імуногістохімічний аналіз.

### Вступ

Згідно із сучасними відомостями провідним центром керування циркадіанною системою ссавців вважають супрахіазматичні ядра гіпоталамуса (СХЯ) [Чибисов и др., 2013]. Водночас організація циркадіанних ритмів біологічних систем залежить від взаємодії центральних ланок керування коливальними процесами в організмі і мозкових структур посередників у вигляді т.з. функціональних хронобіологічних блоків [Хильдебрандт и др., 2006].

Один із подібних блоків формується внаслідок відносин між СОЯ та шишкоподібною залозою (епіфізом мозку) [Reiter et al., 2014]. Вона синтезує значну кількість біогенних амінів, а також основну масу головного епіфізарного гормону - мелатоніну (МТ) [Пішак та ін., 2012]. Показано, що секреція мелатоніну підпорядкована чітким добовим варіаціям з мінімальним значенням вдень і максимумом близько 02.00 год [Hasler et al., 2010; Trivedi, Kumar, 2014; Rivara et al., 2015].

Через мелатонінові рецептори (мембранні, цитозольні та ядерні) гормон контролює стан гіпоталамо-гіпофізарної системи й активність ендокринних залоз [Ishii et al., 2009]. Окрім того, за механізмом зворотного зв'язку він втручається в діяльність супраоптичного ядра гіпоталамуса (СОЯ) [Juszczak et al., 2014]. Авторадіографія і радіоімунний аналіз показали присутність мелатонінових рецепторів у різних структурах мозку людини,

кишечнику, яєчниках і кровоносних судинах [Chan, Wong, 2013; Sampaio et al., 2012]. Припускають, що мелатонінові рецептори СОЯ причетні до регуляції циркадіанних ритмів [Wu et al., 2006]. Однак, відомості щодо характеристики мелатонінових рецепторів у нейронах СОЯ гіпоталамуса мозку щурів практично відсутні.

Ця стаття є продовженням публікування отриманих результатів імуногістохімічних досліджень мелатонінових рецепторів нейронів різної локалізації головного мозку щурів у циркадіанній залежності за стандартних та гіперліюмінізованих умов [Пішак, Булик, 2010] та передуює аналогічним за методиками (імуногістохімія) запланованим дослідженням зі зміною світлового режиму.

**Мета** дослідження - на підставі імуногістохімічної методики, поєднаної з комп'ютерною мікроденситометрією, надати кількісну циркадіанну характеристику щільності мелатонінових рецепторів у нейронах супраоптичного ядра гіпоталамуса щурів.

### Матеріали та методи

Експерименти проведені на 40 статевозрілих безпородних білих самцях щурів масою 0,15-0,18 кг. Тварин утримували у твариннику при сталій температурі, вологості повітря й вільному доступі до води та їжі. Дослідних тварин поділено на 2 серії, у кожній з кот-