



УДК 591.4+616.36-002/599.823.4+546.17



ДІДЕНКО В.І., КЛЕНІНА І.А., РУДЕНКО А.І.,
МАКАРЧУК В.А., ОШМЯНСЬКА Н.Ю., ГАЛІНСЬКИЙ О.О.
ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України», м. Дніпропетровськ

МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ ПЕЧІНКИ ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ГЕПАТИТОМ В УМОВАХ ДИСБАЛАНСУ ОКСИДУ АЗОТУ

Резюме. Встановлено, що через 7 днів після чотириразового введення чотирихлористого вуглецю (CCl_4) в печінці щурів розвивається гострий гепатит, основою якого є переважно поширена жирова дистрофія, яка займає 40–80 % всієї площі біоптату та завжди локалізована навколо портальних трактів з найбільшим ураженням I–II зони ацинусів. Морфологічні зміни в I групі супроводжувалися підвищенням активності аргінази (АР) в гомогенатах печінки щурів на 50,0 % ($p < 0,01$), а вміст метаболітів оксиду азоту (NO_x) був зниженим на 20,0 % ($p < 0,01$) порівняно з контрольною групою. Також спостерігалось зниження кількості відвідуваних щурами зовнішніх квадратів на 79,4 %, а внутрішніх – на 78,3 % порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$). Через 7 днів після одноразового введення CCl_4 (II група) відмічалася схожа з I групою морфологічна картина, але у ряді випадків зміни характеризувалися меншою інтенсивністю. Розвиток експериментального гепатиту на тлі нестачі оксиду азоту в 100 % випадків характеризувався вираженим розширенням синусоїдів по всій площині біоптату. Руйнування гепатоцитів внаслідок жирової дистрофії мало більш локальний характер. У щурів III групи відбувалося інгібування активності АР на 22,1 % ($p < 0,05$) та зниження вмісту NO_x на 21,5 % порівняно з контрольною групою.

Розвиток гострого гепатиту на тлі надлишку оксиду азоту у 75,0 % тварин супроводжувався менш поширеною, але більш вираженою жировою дистрофією з локальними фокусами некрозу. Активність АР мала тенденцію до підвищення на 9,9 % порівняно з контрольною групою, виявлена тенденція до зниження NO_x на 16,1 %, що аналогічно біохімічним показникам I групи. Тварини групи одноразового введення CCl_4 на тлі 5-добового надлишку NO характеризувалися зниженою руховою і орієнтовно-дослідницькою активністю. Отримані дані свідчать про те, що нами відтворена модель гепатиту шляхом одноразового введення CCl_4 на тлі надлишку NO . Це підтверджувалося характерними для гепатиту морфологічними змінами та компенсаторною відповіддю організму у вигляді підвищення активності аргінази та зменшенням вмісту метаболітів оксиду азоту в гомогенаті печінки. Одноразове введення CCl_4 на фоні надлишку NO призводило до порушення як рухової активності, так і орієнтовно-дослідницької діяльності піддослідних тварин.

Ключові слова: печінка, експериментальний гепатит, чотирихлористий вуглець, нітро-L-аргінін, натрію нітроприсид, оксид азоту.

© Діденко В.І., Кленіна І.А., Руденко А.І.,
Макарчук В.А., Ошмянська Н.Ю., Галінський О.О., 2014
© «Гастроентерологія», 2014
© Заславський О.Ю., 2014

Вступ

В останні роки дослідниками активно вивчається роль оксиду азоту (NO) в регуляції шлунково-кишкового тракту в нормі та при патології, зокрема при захворюваннях печінки невірусної етіології [6, 10, 12]. Відомо, що NO має потужну вазодилаторну дію і може бути причиною гіпердинамічного кровообігу, отже, розвитку асцити, гепаторенального синдрому та портальної гіпертензії. NO синтезується в ендотелії з L-аргініну; його дія пов'язана з активацією гуанілатциклази. Активність NO-синтаз можна змінювати введенням, наприклад, NG-монометил-L-аргініну, який усуває багато судинорозширюючих ефектів NO [6, 16]. Так, у щурів із портальною гіпертензією він зменшував прояви гіпертонічного кровообігу, при цирозі печінки у цих тварин чутливість до супресорної дії інгібіторів NO підвищена; їх введення підвищує тиск у воротній вені [7]. Останнім часом з'явився інтерес до вивчення ензиму — аргінази (AP) у зв'язку з її участю в метаболізмі NO. Маловідомим є той факт, які ж саме зміни відбуваються між вмістом AP та метаболітами оксиду азоту (NO_x) при надлишку NO, а також при блокуванні його синтезу. Дослідження властивостей AP та зіставлення її із вмістом метаболітів NO мають важливе значення при з'ясуванні біохімічних процесів, які відбуваються в печінці на тлі дисбалансу NO за умов моделювання експериментального гепатиту [4, 5].

Один з найбільш поширених способів моделювання у тварин дистрофії печінки пов'язаний із введенням чотирохлористого вуглецю (CCl₄). Цей спосіб був використаний нами як основа для відпрацювання моделі експериментального гепатиту в умовах дисбалансу NO. Враховуючи той факт, що при тривалому блокуванні активності всіх видів синтаз за допомогою неспецифічного блокатора нітро-L-аргініну в наших попередніх дослідженнях ми спостерігали порушення кровообігу в печінці, застій крові в малих та великих венах портального тракту, що створювало гіпоксичні умови для функціонування гепатоцитів [8, 13], залишається відкритим питання щодо впливу дисбалансу NO на тлі одноразового введення CCl₄ на формування патологічного процесу в печінці. Ми припускаємо, що цей спосіб моделювання гепатиту може викликати морфологічну деструкцію та функціональні зміни печінки.

Мета роботи — вивчити особливості морфологічних і біохімічних змін печінки та стан фізіологічної активності щурів при моделюванні гепатиту в умовах дисбалансу оксиду азоту.

Робота є фрагментом науково-дослідної роботи ДУ «Інститут гастроентерології НАМН України» «Вивчити функціональні та структурні порушення печінки на стадіях формування портальної гіпертензії у хворих на хронічні дифузні захворювання печінки» (клініко-експериментальне дослідження), номер держреєстрації 0113U001050.

Матеріали та методи

Дослідження проводились на 24 білих лабораторних щурах-самцях масою 180–230 г, яких випадковим

чином розділили на контрольну (n = 6) та 4 дослідні групи:

— I (n = 4) — введення CCl₄ один раз на добу протягом 4 днів. Тварин виводили з експерименту через 7 діб після початку експерименту [15];

— II (n = 4) — одноразове введення CCl₄ з виведенням через 7 діб після початку експерименту [17];

— III (n = 6) — введення внутрішньочеревинно NG-нітро-L-аргініну (L-NNA) виробництва Sigma-Aldrich (США) протягом 5 діб в дозі 40 мг/кг, в останню добу вводили CCl₄. Тварин виводили з експерименту після 7 діб моделювання;

— IV (n = 4) — введення внутрішньочеревинно 1% розчину натрію нітропрусиду (NaНП) на фізіологічному розчині (Sodium nitroprusside dihydrate) виробництва Sigma-Aldrich (США) в дозі 2,5 мг/кг ваги тіла протягом 5 діб, в останню добу вводили CCl₄. Тварин виводили з експерименту після 7 діб моделювання.

Моделювання гепатиту відтворювали шляхом підшкірного введення 50% розчину CCl₄ на оливковій олії в дозі 0,4 мл на 100 г маси тварини.

Розчини L-NNA та NaНП готували безпосередньо перед експериментом (згідно з рекомендаціями виробника препаратів) і вводили тваринам внутрішньочеревинно.

Евтаназію тварин здійснювали за допомогою введення летальної дози кетаміну гідрохлориду. Дослідження проводили, дотримуючись нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи (1997), Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей, загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (2001), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі.

Для якісної та кількісної оцінки впливу моделювання гепатиту на зміну індивідуально-типологічних, психоемоційних особливостей поведінки тварин їх проводили в лабіринті «відкрите поле» та у припіднятому чотирипроменевому лабіринті (за модифікацією А.В. Калусьва) [9]. Тестування у «відкритому полі» здійснювалося за методикою Буреша [2]. Згідно з методикою «відкрите поле» щура поміщали в освітлену камеру і враховували дефекації, уринації, величину рухової та орієнтовно-дослідницької активності протягом 5 хвилин. Ця методика дозволяє вивчити індивідуально-типологічні особливості поведінки, пов'язані з проблемою індивідуальної стійкості до емоційних стресів. Тварини проходили тестування в лабіринті, «відкритому полі» до початку та після закінчення моделювання хронічного гепатиту. Згідно з літературними даними [9], тварина, яка проходить тестування не більше ніж 5 хвилин, не запам'ятовує оточуюче середовище, і кожне наступне тестування, віддалене більше ніж на добу, викликає аналогічні реакції на новизну, як і при першому проходженні тестування, тобто не розвивається звикання до «відкритого поля».

Гепатит підтверджували морфологічно. Для гістологічних досліджень біоптати печінки фіксували в

10% розчині нейтрального формаліну, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації і заливали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 3–5 мкм забарвлювали гематоксилином і еозином та за Маллорі в модифікації Слінченка і монтували на предметні скельця. На біоптатах оцінювалася мікроскопічна будова органа, наявність та характер дистрофічних змін, інфільтрація клітинами запалення та стан порталних трактів. Для комп'ютерної морфометрії біоптати фотографували і здійснювали вимірювання за допомогою програми ImageJ 1.45S (розроблена в National Institutes of Health, США). Підраховувалася площа дистрофічних змін щодо загальної площі.

В гомогенаті печінки щурів визначали активність АР за В.А. Храмовим [18], вміст NO_x — за В.А. Метельською [11].

Для статистичного аналізу отриманого числового матеріалу використовували описативну статистику: порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричних методів (t-критерію Ст'юдента) за нормального розподілу даних ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіро — Уїлка. Відмінності, отримані за методом парних порівнянь, вважали вірогідними при $p < 0,05$. Усі вихідні дані, отримані при виконанні роботи, з метою оптимізації математичної обробки вводили у базу даних, побудовану за допомогою електронних таблиць Microsoft Excel 2010 [1, 3, 8].

Результати дослідження

Встановлено, що через 7 днів після чотириразового введення CCl_4 в печінці щурів розвивається гострий гепатит, основою якого є переважно поширена жирова дистрофія, яка займає 40–80 % всієї площі біоптату та завжди локалізована навколо порталних трактів з найбільшим ураженням I–II зони ацинусів (рис. 1). Запальна інфільтрація відсутня. Переважна більшість ге-

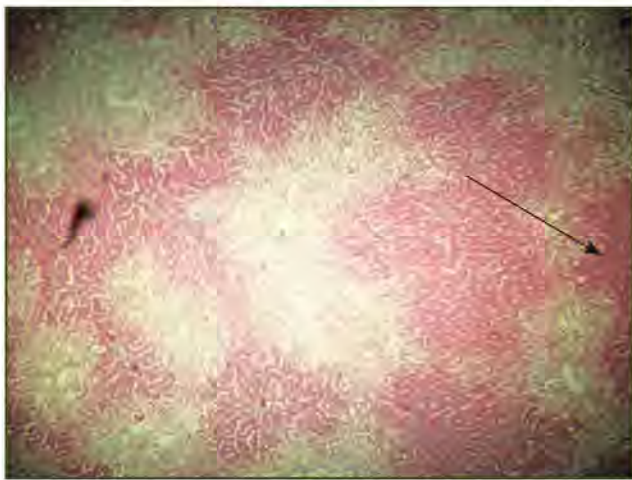


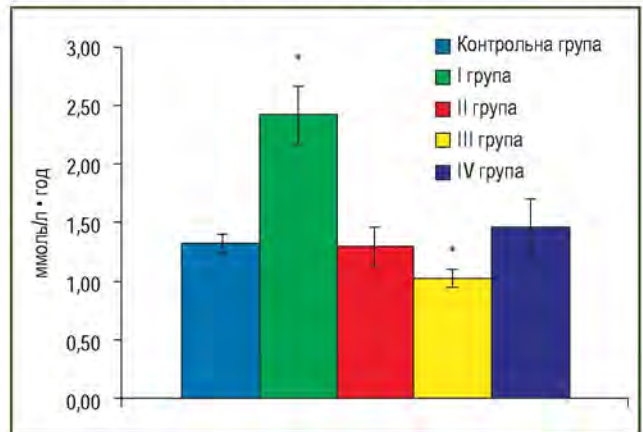
Рисунок 1 — Печінка щура, вплив CCl_4 . Поширена жирова дистрофія з найбільшим ураженням I–II зони ацинусів, простір навколо центральної вени залишається інтактним (стрілочка). Забарвлення гематоксилином та еозином, зб. $\times 100$

патоцитів, не порушених дистрофією, перебуває у стані еозинофільної дегенерації. Локально у I зоні ацинуса відзначалося прогресування дистрофії з розвитком ба-лонної дистрофії.

Морфологічні зміни в I групі супроводжувалися підвищенням активності АР в гомогенатах печінки щурів на 50,0 % ($p < 0,01$) порівняно з групою контролю (рис. 2). Механізм підвищення активності ензиму можна пояснити значною активацією детоксикаційної функції печінки у щурів в умовах розвитку гострого гепатиту.

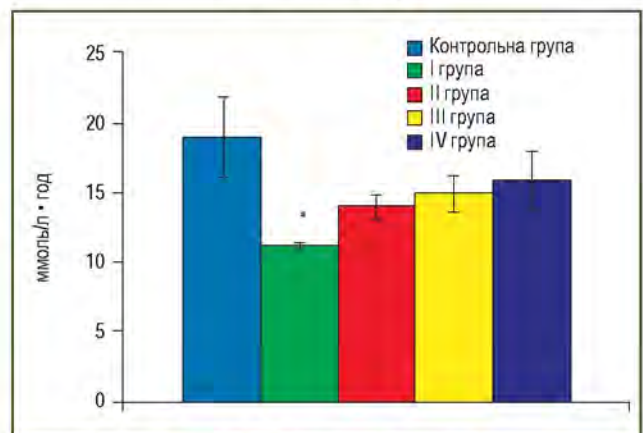
Вміст метаболітів NO_x був зниженим на 20,0 % ($p < 0,01$) порівняно з групою контролю (рис. 3).

Зміни активності АР та вмісту NO_x підтверджують те, що NO -синтаза та АР в умовах експерименту активно конкурують за субстрат L-аргінін. АР як конкуруючий за субстрат ензим і метаболіти подальшого перетворення її продуктів здатні істотно впливати на активність NO -синтазної реакції, чим пояснюється знижений рівень метаболітів оксиду азоту. Слід зазначити, що, незважаючи на морфологічну деструкцію тканини пе-



Примітка. * — $p < 0,05$ — порівняно з контрольною групою.

Рисунок 2 — Активність аргінази в гомогенаті печінки щурів при моделюванні експериментального гепатиту



Примітка. * — $p < 0,05$ — порівняно з контрольною групою.

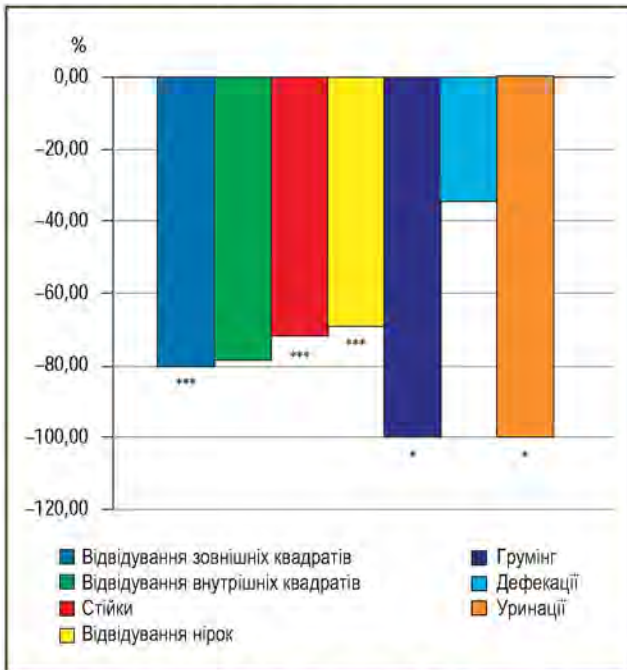
Рисунок 3 — Концентрація метаболітів оксиду азоту в гомогенаті печінки щурів при моделюванні експериментального гепатиту

чінки, у тварин цієї групи розвивалася системна позитивно-компенсаторна відповідь організму [5, 7].

У тварин I групи спостерігалася зниження відвідування кількості зовнішніх квадратів на 79,4 %, а внутрішніх — на 78,3 % порівняно з контрольною групою ($p < 0,001$) (рис. 4).

Максимальна рухова активність у тварин цієї групи спостерігалася на 1-шу хвилину тестування з подальшим зниженням та повною відсутністю активності вже на 3-тю хвилину. Така картина рухової активності подібна до контролю, з різницею в тому, що в контрольній групі рухова активність на 3-й хвилині досягає мінімальних значень, проте не зникає (рис. 5).

Через 7 днів після одноразового введення CCl_4 (II група) спостерігалася схожа з I групою морфологічна картина, але у ряді випадків зміни характеризувалися меншою інтенсивністю. В гомогенатах печінки щурів II групи була виявлена лише тенденція до зниження вмісту NO_x на 16,0 %. Одноразове введення CCl_4 не викликало суттєвих змін і в поведінці щурів. Загальна рухова активність у тварин цієї групи майже не відрізнялась від контролю, про що свідчить незначне підвищення кількості відвідування зовнішніх квадратів лише на 11,6 %. За А.В. Калусевим, аналіз відвідувань внутрішніх квадратів в цій групі свідчив про зміни не в руховій активності, а в емоційному стані. Максимальна рухова активність у тварин II групи спостерігається на 1-шу хвилину тестування з подальшим зниженням та профілем поведінки, аналогічним такому в контрольній групі, з тією відмінністю, що кількісні показники рухової активності на 3-тю — 5-ту хвилину були вищі за контрольні значення.



Примітки: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,001$ — порівняно з контрольною групою.

Рисунок 4 — Зміна етограми щурів I групи після моделювання гострого гепатиту шляхом чотириразового введення CCl_4

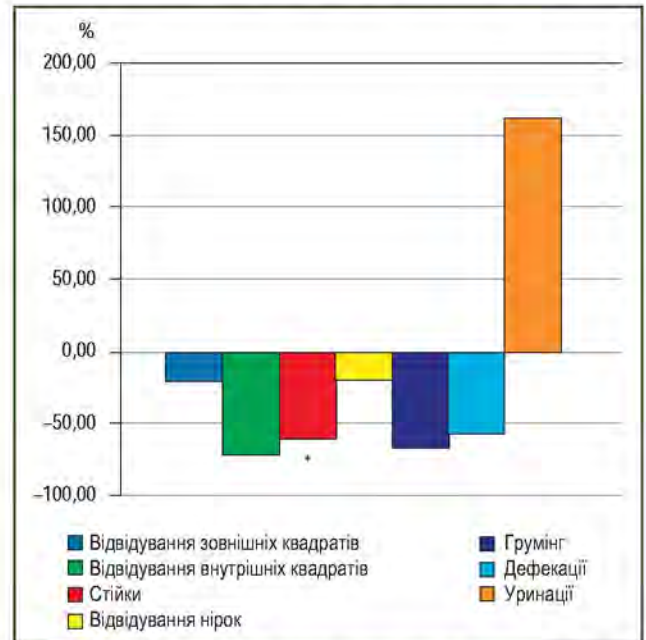
Розвиток експериментального гепатиту на тлі нестачі оксиду азоту в 100 % випадків характеризувався вираженим розширенням синусоїдів по всій площині біоптату (рис. 6). Руйнування гепатоцитів внаслідок жирової дистрофії мало більш локальний характер, також привертав увагу нерівномірний розподіл уражених гепатоцитів по площині біоптату. Так, у всіх випадках зустрічалися зони як більшого, так і меншого ураження, у той час як у попередніх групах кожен портальний тракт був порівняно однаковим.

При моделюванні гепатиту на тлі дисбалансу оксиду азоту було виявлено різний механізм змін активності AP та вмісту метаболітів оксиду азоту. Моделювання гепатиту у щурів III групи на тлі введення блокатора призводило до інгібування активності AP на 22,1 % ($p < 0,05$) та зниження вмісту NO_x на 21,5 % порівняно з контрольною групою (рис. 2).

Розвиток гострого гепатиту на тлі надлишку оксиду азоту у 75 % тварин супроводжувався менш поширеною, але більш вираженою жировою дистрофією з локальними фокусами некрозу (рис. 6б).

При моделюванні гепатиту на тлі введення донатору NO активність AP мала тенденцію до підвищення на 9,9 % порівняно з групою контролю, та виявлена тенденція до зниження NO_x на 16,1 %, що аналогічно біохімічним показникам в I групі, у якій модель гепатиту створювали класичним способом.

Тварини групи з одноразовим введенням CCl_4 на тлі 5-добового надлишку NO характеризувалися мінімальною руховою активністю порівняно з тваринами як групи контролю, так і інших груп. У щурів IV групи спостерігалася більш суттєве зниження орієнтовно-



Примітка. * — $p < 0,05$ — порівняно з контрольною групою.

Рисунок 5 — Зміна етограми щурів III групи після моделювання гострого гепатиту шляхом одноразового введення CCl_4 на фоні п'ятидобового дефіциту NO

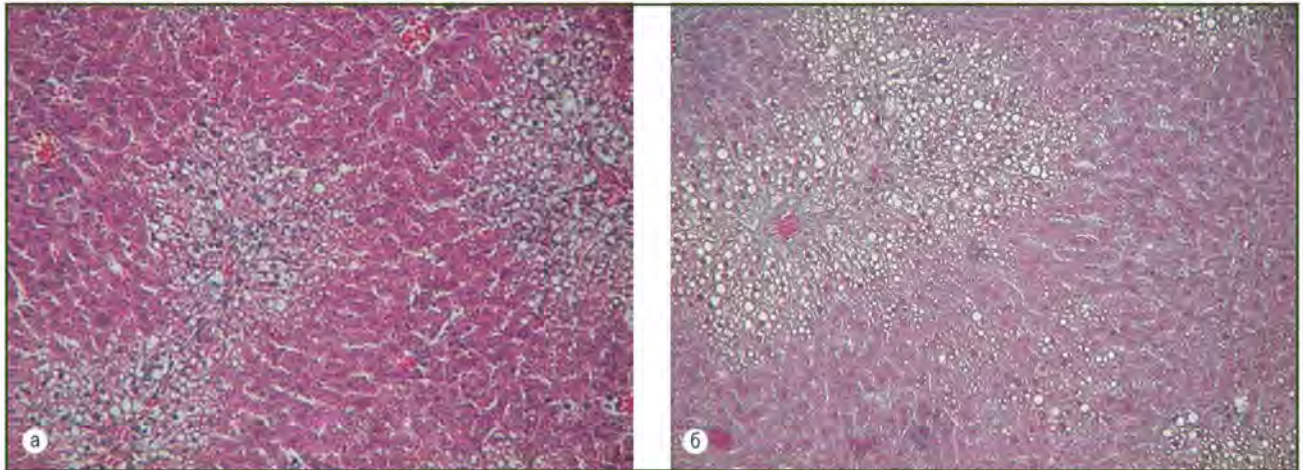


Рисунок 6: а) печінка щура, вплив CCl_4 на тлі введення L-NNA. Локалізована жирова дистрофія, переважно в I зоні ацинуса. Розширення синусоїдів та центральної вени. Забарвлення гематоксилином і еозином, зб. $\times 100$; б) Печінка щура, вплив CCl_4 на тлі введення натрію нітропрусиду. Локалізована жирова дистрофія, переважно в I зоні ацинуса, елементи балонної дистрофії. Портальні тракти розширені, переповнені кров'ю. Забарвлення гематоксилином та еозином, зб. $\times 100$

дослідницької діяльності порівняно з попередньою групою. Так, кількість стійок у тварин цієї групи була меншою на 60,1 % ($p < 0,05$), а кількість відвідувань нірок — на 18,8 % порівняно з цими показниками в контрольній групі (рис. 7).

У тварин IV групи з гепатитом, отриманим шляхом одноразового введення CCl_4 на тлі 5-добового надлишку NO, спостерігалися найбільш значні порушення в профілі поведінки порівняно з іншими групами, що відображається у значному зниженні загальної рухової

активності, яка зникає вже на 2-й хвилині тестування, та суттєвому зниженні орієнтовно-дослідницької діяльності на тлі підвищення рівня емоційного напруження.

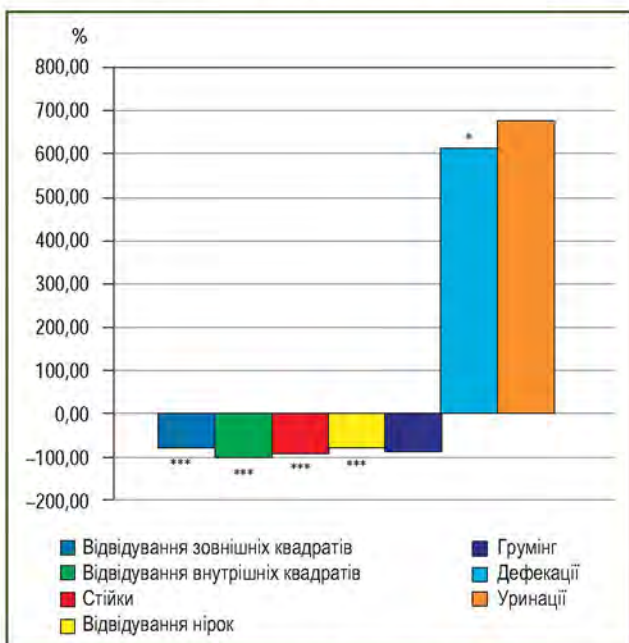
Отримані дані свідчать про те, що нами відтворена модель гепатиту шляхом одноразового введення CCl_4 на тлі надлишку NO. Це підтверджувалося характерними для гепатиту морфологічними змінами та компенсаторною відповіддю організму у вигляді підвищення активності аргінази та зменшення вмісту метаболітів оксиду азоту в гомогенаті печінки. Подібні морфологічні та біохімічні зміни спостерігалися в групі тварин з моделюванням гепатиту, що проводили за загально-визнаним методом [15]. Одноразове введення CCl_4 на тлі надлишку NO призводило до порушення як рухової активності, так і орієнтовно-дослідницької діяльності піддослідних тварин. В подальшому цей спосіб може бути використаний для отримання моделі хронізації та прогресування гепатиту у щурів з метою з'ясування механізмів патогенезу хронічних дифузних захворювань печінки.

Висновки

1. Введення CCl_4 викликає гостре ураження печінки, яке морфологічно виражається пошкодженням гепатоцитів у вигляді великокраплинної жирової дистрофії I і II зони ацинусів, що супроводжувалося активацією детоксикаційної функції печінки та зниженням вмісту метаболітів оксиду азоту.

2. Введення NG-нітро-L-аргініну та одноразове введення CCl_4 викликає компенсаторне розширення синусоїдів і нерівномірний розподіл жирової дистрофії, при цьому відмічаються зони з мінімальним пошкодженням, що обумовлює більш сприятливий прогноз. В гомогенаті печінки щурів було виявлено інгібування активності аргінази, що свідчить про пригнічення детоксикаційної функції печінки.

3. Введення CCl_4 на тлі надлишку оксиду азоту відзначається більш тяжким перебігом, коли зона уражен-



Примітки: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ — порівняно з контрольною групою.

Рисунок 7 — Зміна етограми щурів IV групи після моделювання гострого гепатиту шляхом одноразового введення CCl_4 на тлі п'ятидобового надлишку NO

ня гепатоцитів менше, однак балонна дистрофія і точкові некрози гепатоцитів, сфокусовані в І зоні ацинуса, зустрічалися частіше. Морфологічні зміни супроводжувалися підвищенням активності аргінази та зменшенням вмісту метаболітів оксиду азоту в гомогенаті печінки шурів.

Список літератури

1. Бабич П.Н. Применение статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение второе. Применение критерия ХИ-квадрат / П.Н. Бабич, А.В. Чубенко, С.Н. Лапач // Украинський медичний часопис. — 2004. — Т. 40, № 2. — С. 138-143.
2. Буреиш Я. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / Я. Буреиш, О. Буреишова, П. Джозеф. — М.: Высшая школа, 1991. — 399 с.
3. Бююль А. SPSS: искусство обработки информации. Анализ статистических данных и восстановление скрытых закономерностей: Пер. с нем. / А. Бююль, П. Цефель. — СПб.: ДнаСофтЮП, 2005. — 608 с.
4. Воробець З.Д. Аргіназна система в організмі людини при розвитку патологічних процесів / З.Д. Воробець, У.П. Єфремова, О.І. Якубець // Клінічна та експериментальна патологія. — 2012. — Т. 11, № 3 (41), ч. 2. — С. 153-160.
5. Активність металоферментів органів і тканин експериментальних тварин при дії етанолу // Медицина сьогодні і завтра. — 2009. — № 1. — С. 4-9.
6. Эндотелиальная синтаза оксида азота как важный фактор при экспериментальном фиброзе печени / Tung-Ming Leung, George I. Tiroe, Emily C. Liong [et al.] // Сучасна гастроентерологія. — 2010. — Т. 55, № 5. — С. 109-119.
7. Зайцев В.М. Прикладная медицинская статистика: Учебное пособие [2-е изд.] / В.М. Зайцев, В.Г. Лифляндский, В.И. Маринкин — СПб.: Фолиант, 2006. — 432 с.
8. Калугев А.В. Стресс, тревожность и поведение / А.В. Калугев. — К., 1998.
9. Вплив даларгіну на морфоструктуру тканини печінки та активність ферментів сироватки крові шурів за умов мо-

делювання підгострого алкогольного гепатиту / Ж.В. Картіфузова, Є.М. Решетнік, С.І. Павлович [та ін.] // Вісник наукових досліджень. — 2010. — № 1. — С. 88-91.

10. Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Лабораторная диагностика. — 2005. — № 6. — С. 15-18.
11. Наконечна О.А. Активність індикаторних ферментів печінки та вміст альбуміну в крові шурів за умов тривалої дії простих полієфірів / О.А. Наконечна // Медицина сьогодні і завтра. — 2008. — №4. — С. 12-14.
12. Оцінка протеїнсинтезуючої функції печінки за експериментального гепатиту / В.А. Грищенко, В.А. Томчук, О.М. Литвиненко [та ін.] // Укр. біохім. журнал. — 2011. — Т. 83, № 1. — С. 63-68.
13. Пат. 68239 Україна, МПК (2012) G09B 23/00 Спосіб моделювання гепатиту в експерименті / Руденко А.І., Кленіна І.А., Челкан В.В., Плотніченко Н.В. — Заявл. 29.06.2011; опубл. 26.03.2012, Бюл. № 6. — 6 с.
14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общ. ред. Р.У. Хабриева [2-е изд.]. — М.: Медицина, 2008. — 685 с.
15. Влияние липосомальной формы перхлорона на морфофункциональное состояние печени и почек у белых крыс / З.Г. Самбуева, Г.Н. Малханова, И.А. Павлов [и др.] // Сибирский медицинский журнал. — 2009. — № 3. — С. 24-26.
16. Фаращук Н.Ф. Мексидол и гепатит: результаты в эксперименте и перспективы в клинике / Н.Ф. Фаращук // Бюл. эксперим. биологии и медицины. — 2006, прил. 1. — С. 242-249.
17. Функціонально-морфологічні зміни печінки при експериментальному гепатиті / А.І. Руденко, Л.Я. Мельниченко, І.А. Кленіна [та ін.] // Вісник проблем біології та медицини. — 2012. — Вип. 3. — Т. 2 (95). — С. 191-194.
18. Храмов В.А. Модификация метода определения орнитина по Chinard и ее использование для количественного определения сывороточной аргиназы / В.А. Храмов, Г.Г. Листопад // Лабораторное дело. — 1973. — № 10. — С. 591-592.

Отримано 27.10.14 ■

Диденко В.И., Кленіна І.А., Руденко А.И., Макаруч В.А., Ошмянская Н.Ю., Галинский А.А. ГУ «Институт гастроэнтерологии НАМН Украины», г. Днепрпетровск

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ ПЕЧЕНИ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫМ ГЕПАТИТОМ В УСЛОВИЯХ ДИСБАЛАНСА ОКСИДА АЗОТА

Резюме. Установлено, что через 7 дней после четырехразового введения четыреххлористого углерода (CCl₄) в печени крыс развивается острый гепатит, основой которого является преимущественно распространенная жировая дистрофия, занимающая 40–80 % всей площади биоптата и всегда локализованная вокруг портальных трактов с наибольшим поражением I–II зоны ацинусов. Морфологические изменения в I группе сопровождались повышением активности аргиназы (АР) в гомогенатах печени крыс на 50,0 % (p < 0,01), а содержание метаболитов оксида азота (NO_x) было снижено на 20,0 % (p < 0,01) по сравнению с контрольной группой. Также наблюдалось снижение количества посещенных крысами внешних квадратов на 79,4 %, а внутренних — на 78,3 % в сравнении с контрольной группой (p < 0,001). Через 7 дней после однократного введения

CCl₄ (II группа) отмечалась схожая с I группой морфологическая картина, но в ряде случаев изменения характеризовались меньшей интенсивностью. Развитие экспериментального гепатита на фоне недостатка оксида азота в 100 % случаев характеризовалось выраженным расширением синусоидов по всей плоскости биоптата. Разрушение гепатоцитов вследствие жировой дистрофии имело более локальный характер. У крыс III группы происходило ингибирование активности АР на 22,1 % (p < 0,05) и снижение содержания NO_x на 21,5 % по сравнению с контрольной группой.

Развитие острого гепатита на фоне избытка оксида азота у 75,0 % животных сопровождалось менее распространенной, но более выраженной жировой дистрофией с локальными фокусами некроза. Активность АР имела тенденцию к повышению

на 9,9 % в порівнянні з контролем, виявлена тенденція до зниження NO_x на 16,1 %, що аналогічно біохімічним показателям I групи. Животні з групи однократного введення CCl_4 на фоні 5-денного надлишку NO характеризувалися пониженою руховою та орієнтовочно-дослідницькою активністю. Отримані дані свідчать про те, що нами створено модель гепатиту шляхом однократного введення CCl_4 на фоні надлишку NO . Це підтверджувалося характерними для гепатиту морфологічними змінами та компенсатор-

ним відпов'ям організму у вигляді підвищення активності аргінази та зменшення вмісту метаболітів оксиду азоту в гомогенаті печінки. Однократне введення CCl_4 на фоні надлишку NO призводило до порушення як рухової активності, так і орієнтовочно-дослідницької діяльності підопитаних тварин.

Ключевые слова: печінка, експериментальний гепатит, чотирихлористий вуглець, нітро-L-аргінин, натрій нітропруссид, оксид азоту.

Didenko V.I., Klenina I.A., Rudenko A.I., Makarchuk V.A., Oshmianska N.Yu., Halinskyi O.O.
State Institution «Institute of Gastroenterology of National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Dnipropetrovsk, Ukraine

MORPHOFUNCTIONAL CHANGES IN THE LIVER OF RATS WITH EXPERIMENTAL HEPATITIS IN NITRIC OXIDE IMBALANCE

Summary. It was found that 7 days after four-time administration of carbon tetrachloride (CCl_4), acute hepatitis develops in the liver of rats, the basis of it was predominantly common fatty degeneration which occupies 40–80 % of the whole area of biopsy sample and is always localized around the portal area with the largest lesion of I–II acinal area. Morphological changes in the I group were accompanied by increased activity of arginase (AR) in rat liver homogenates by 50.0 % ($p < 0.01$), and the content of nitric oxide metabolites (NO_x) were reduced by 20.0 % ($p < 0.01$) compared to controls. Also, there was a decrease in the number of external squares, visited by rats, by 79.4 %, and internal ones — by 78.3 % compared with the control group ($p < 0.001$). Seven days after a single administration of CCl_4 (II group), we observed morphological pattern, similar to that of in the I group, but in some cases the changes were characterized by a lower intensity. The development of experimental hepatitis on the background of a lack of nitric oxide in 100 % of cases was characterized by a significant sinusoidal dilatation throughout the plane of biopsy sample. Destruction of hepatocytes due to fatty degeneration was more localized. In the rats of the III group AR activity was inhibited

by 22.1 % ($p < 0,05$) and NO_x content was reduced by 21.5 % compared with the control group.

The development of acute hepatitis on a background of nitric oxide excess in 75.0 % of the animals was accompanied by a less common, but more severe fatty degeneration with local foci of necrosis. AR activity tended to increase by 9.9 % compared with the controls, a trend towards reduction of NO_x by 16.1 % was noted, which is similar to biochemical parameters of the I group. Animals from group of single CCl_4 administration on the background of 5-day NO excess were characterized by reduced motor and orienting-investigative activity. The findings indicate that we have created a model of hepatitis by a single CCl_4 injection on the background of NO excess. This was confirmed by morphological changes, characteristic for hepatitis, and compensatory response of the organism in the form of increased arginase activity and by a decrease in the content of nitric oxide metabolites in the liver homogenate. A single injection of CCl_4 on a background of NO excess led to disorder of both motor and orienting-investigative activity in experimental animals.

Key words: liver, experimental hepatitis, carbon tetrachloride, nitro-L-arginine, sodium nitroprusside, nitric oxide.