

**Ю. М. Степанов, В. І. Діденко, О. Б. Динник*, І. С. Коненко, Н. Ю. Ошмянська,
О. О. Галінський, А. І. Руденко**

Державна установа “Інститут гастроентерології НАМН України”, 49074 Дніпро
*Державна установа “Інститут фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України”, 01601 Київ

ВЗАЄМОЗВ’ЯЗОК МІЖ МОРФОЛОГІЧНИМИ ЗМІНАМИ ПЕЧІНКИ ТА ЖОРСТКІСТЮ ЇЇ ПАРЕНХІМИ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ АЛКОГОЛЬНОГО ТА ТОКСИЧНОГО ГЕПАТИТУ

(Представлено чл.-кор. НАМН України В. З. Нетяженком)

Авторами відтворено послідовні етапи розвитку хронічного гепатиту за допомогою різних експериментальних моделей алкогольного та токсичного гепатиту та на їх основі вивчення взаємозв’язку між морфологічними змінами печінки та жорсткістю її паренхіми. Виявлено, що довгострокова алкоголізація тварин призвела до розвитку жирової дистрофії, але це не вплинуло на підвищення жорсткості печінкової паренхіми, у той час, як токсичний вплив CCl_4 призвів до розвитку морфологічно підтвердженого цирозу печінки зі статистично достовірним збільшенням жорсткості до $(11,40 \pm 0,98)$ кПа. Додатковий вплив розчину *L*-аргініну викликає більш виражені порушення структури печінки із характерним розширенням та проліферацією жовчних проток та перебудовою портальних трактів, що зумовило максимальне збільшення жорсткості печінкової паренхіми до $(13,05 \pm 0,79)$ кПа. Розрахунок надлишку маси печінки за рахунок абсорбції фізіологічного розчину під час дослідження *in vitro* може служити додатковим критерієм оцінки. Так, при цирозі цей показник був достовірно підвищений (34,2 % та 36,7 % у порівнянні з 22,9 % у щурів контрольної групи), а також значно відрізнявся при моделюванні NO-індукованого впливу на мікросудинне русло печінки на фоні алкоголізації (25,5 % у порівнянні з 32,0 %).

Ключові слова: хронічний гепатит, алкогольний гепатит, експериментальний гепатит, еластографія хвилі зсуву.

За статистичними даними ВООЗ відомо, що алкоголь є причиною близько 2,5 млн смертей щорічно. Чисельні дослідження підтверджують, що вживання великої кількості алкоголю призводить до розвитку кардіоваскулярних, імунологічних, неврологічних хвороб, ураження легенів, органів травлення та навіть кісткової патології. Патофізіологія системної дії алкоголю характеризується

оксидативним стресом, активацією імунних реакцій та порушенням ушкодженої взаємодії кишечника та печінки. Хронічне запалення при цьому запускається прямим каскадом детоксикаційного процесу та непрямими імунологічними реакціями на ліпополісахариди кишкової мікрофлори [18]. Гостре отруєння алкоголем може спричинити різке падіння рівня глюкози, калію, магнію, альбу-

Інститут гастроентерології НАМН України

Ю. М. Степанов — директор інституту, д.м.н., професор

В. І. Діденко — провідн.н.с. відділення захворювань печінки, к.м.н.

І. С. Коненко — н.с. діагностичного відділу

Н. Ю. Ошмянська — с.н.с. лабораторії патоморфології, к.м.н. (betinafei@gmail.com)

Лабораторія патофізіології

А. І. Руденко — зав. лабораторії, к.б.н.

О. О. Галінський — н.с.

О. Б. Динник — с.н.с. відділу клінічної патофізіології Інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України, к.м.н.

© Ю. М. Степанов, В. І. Діденко, О. Б. Динник, І. С. Коненко, Н. Ю. Ошмянська, О. О. Галінський, А. І. Руденко, 2017.

міну та фосфатів у крові. Кардіоваскулярні ефекти проявляються у тахікардії, периферичній вазодилатації, зменшенні об'єму циркулюючої крові [14].

Хоча відомо, що алкоголізм асоційований майже із 60 захворюваннями, найбільша кількість смертельних випадків є результатом ураження печінки [16]. Так, алкогольна хвороба — один з основних чинників некомпенсованого цирозу в світі [21] та на теперішній час є найбільш частою причиною трансплантацій; вона складає 40 % випадків всіх трансплантацій печінки у Європі та 25 % — у США [20].

Хоча на теперішній час доступний досить широкий перелік терапевтичних заходів, загальний прогноз при тяжкій формі хвороби залишається невтішним. Короткострокова смертність при гострому алкогольному гепатиті досягає екстремально високих рівнів — 40-50 % [15]. Ризик розвитку алкогольної хвороби зростає паралельно зі зростанням дози та тривалості вживання алкоголю. Однак на розвиток патології впливають інші фактори, такі як ожиріння, жіноча стать, наявність вірусної інфекції, перевантаження залізом, тому вкрай важливим стає пошук додаткових ланок патофізіологічного процесу.

Останніми роками значно розширилися уявлення про роль оксиду азоту (NO) і його метаболітів у різних фізіологічних і патологічних процесах, зокрема локалізованих у печінці [3, 6, 10]. Відомо, що NO має потужну вазодилатуючу дію і може бути причиною гіпердинамічного кровообігу, 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 (L-NMMA), який усуває багато судинорозширюючих ефектів NO [3, 11].

Варто відзначити, що незважаючи на важливу роль біопсійної діагностики серед неінвазивних методів діагностики хронічних дифузних захворювань печінки важливе місце залишається за сонографічними дослідженнями. Одним із найважливіших є метод віртуальної пальпації — компресійна еластометрія та еластометрія зсувної хвилі (ЕЗХ). Дослідниками встановлено, що ультразвукові і низькочастотні пружні хвилі та швидкість їх поширення безпосередньо пов'язані з еластичністю печінки [19].

Але питання діагностичної цінності даного методу на стадіях розвитку стеатогепатиту, стеатозу, фіброзу та цирозу залишається відкритим і потребує подальших досліджень [5].

Отже, аналізуючи доступну літературу з проблемами алкогольних та токсичних уражень печінки,

слід зазначити, що й досі не має повної ясності в послідовності порушень функції та участі в цьому процесі NO. Тому в розкритті деяких механізмів розвитку патологічного процесу в гепатоцитах може допомогти експериментальне моделювання, яке є методом порівняльної медицини, що дозволяє вивчати пато- і саногенез патологічного процесу та зіставити їх із захворюваннями людини. Слід зазначити, що модель дає можливість досліджувати значно глибше ніж прототип, у якого аналогічні дослідження в клінічних умовах майже неможливі.

Саме тому, надзвичайно актуальним є сьогодні пошук нових ланок патогенезу, які в комплексі дозволять вирішити проблему ранньої неінвазивної діагностики уражень печінки алкогольного генезу та максимально наблизити її до стандартів інвазивного біопсійного дослідження.

Метою роботи було вивчення взаємозв'язку між морфологічними змінами печінки та жорсткістю її паренхіми на етапах розвитку хронічного гепатиту відтворених за допомогою експериментальних моделей алкогольного та токсичного гепатиту.

Матеріал і методи. Дослідження проведено на 109 білих лабораторних щурах-самцях масою 180-230 г лінії Вістар, яких було розподілено на контрольну та 4 піддослідні групи (рис. 1).

У тварин I групи ($n = 19$) моделювали хронічний алкогольний гепатит методом примусової переривистої алкоголізації протягом 5 діб, з повтором через дві доби шляхом внутрішньочеревного введення 16,5 % розчину етанолу на 5 % розчині глюкози, з розрахунку 4 мл/кг маси тіла. Після чого їх переводили на 10 % етанол в якості єдиного джерела пиття.

На тваринах II групи ($n = 18$) досліджували вплив надлишку оксиду азоту на формування алкогольних уражень печінки. Тварини отримували етанол за схемою першої групи, але через 14 діб від початку примусової алкоголізації їм внутрішньочеревно вводили 1 % розчину натрію нітропрусиду (NaNP) на фізіологічному розчині (*Sigma-Aldrich*, США), з розрахунку 2,5 мг/кг маси тіла, два рази по 5 діб, з перервою у дві доби.

У тварини III групи ($n = 27$) формували циротичні зміни печінки шляхом підшкірного введення тетрахлорметану з розрахунку 2 мл/кг, у вигляді 50 % розчину на оливковій олії, протягом трьох діб, після чого з наступного тижня, протягом 2 місяців два рази на тиждень підшкірно вводили 0,4 мл/кг тетрахлорметану у вигляді 10 % розчину в оливковій олії.

На IV групі ($n = 24$) тварин, які аналогічним чином як і в III групі піддавалися дії тетрахлор-

I група n = 19	5 + 5 днів преривистої алкоголізації 4 мл/кг етанолу										10 днів 1 мл 0,9 % NaCl											
	5 + 5 днів преривистої алкоголізації 4 мл/кг етанолу										5 + 5 днів нітропрурид натрію 2,5 мг/кг											
I II групи – 60 днів напівпримусова алкоголізація 10 % етанолом																						
III група n = 27	3 дні CCl ₄ 2 мл/кг					2 рази на тиждень по 0,4 мл/кг CCl ₄ протягом 8 тижнів																
	3 дні CCl ₄ 2 мл/кг					2 рази на тиждень по 0,4 мл/кг CCl ₄ протягом 8 тижнів з питвом 0,5 г/кг на добу L-аргініну																
IV група n = 24	3 дні CCl ₄ 2 мл/кг					2 рази на тиждень по 0,4 мл/кг CCl ₄ протягом 8 тижнів з питвом 0,5 г/кг на добу L-аргініну																
Контрольна група n = 21	10 днів 1 мл 0,9 % NaCl										8 тижнів 1 мл 0,9 % NaCl											

Рис. 1. Схема відтворення експериментальних моделей алкогольного гепатиту.

метану, встановлювали вплив L-аргініну на формування експериментального тетрахлорметан-індукованого цирозу печінки, шляхом отримання з питтям водного розчину L-аргініну, з розрахунку 0,5 г/кг на добу.

До контрольної групи (n = 21) увійшли тварини, яким протягом усього терміну дослідження проводили аналогічні маніпуляції, але вводили підшкірно фізіологічний розчин.

Дослідження проводили дотримуючись нормативів Конвенції з біоетики Ради Європи 1997 р., 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 р.), інших міжнародних угод та національного законодавства у цій галузі.

Для оцінки ультразвукової еластографії хвилі зсуву (ЕХЗ) використовували апарат *Ultima PA* (Фірма "Радмир", Харків) контактено, датчиком лінійного формату на частотах 7-10 МГц на глибині 10-30 мм в три підходи — прижиттєвому, при втраті крові (після декапітації) та на акустичному фантомі. Фантом — це пристрій для вивчення ЕХЗ ізольованої печінки щурів у умовах *in vitro* (розробка інституту фізіології ім. О. О. Богомольця НАН України — О. Б. Динник) [2], в основі якого лежить термостатована циліндрична пластикова ємність діаметром 9 см та висотою 10 см, що заповнена імерсійною рідиною (фізіологічним роз-

чином температурою 36-37 °С). Зразок печінки щура занурювали на глибину 5 см від поверхні імерсійної рідини, на спеціальній акустично прозорій сітчастій площадці, яка не створювала акустичного шуму, але дозволяла утримувати досліджуваний зразок на певній відстані від ультразвукового датчика (УЗ). Це запобігало деформації зразка натисненням УЗ датчика. Дані фіксували в архів цифрових зображень УЗ сканера *Ultima PA* для подальшої обробки у форматі *DICOM*.

Вимірювання жорсткості паренхіми печінки проводили по 5 разів у кожному підході, з усередненням даних. При навігації у *B*-режимі ехографії в область інтересу включали ділянку паренхіми печінки без наявності на зображенні структур воріт або ехогенних портальних триад. Враховували характер тканини в поперековому напрямі розповсюдження зсувних хвиль на глибину контрольного об'єму. Контрольний об'єм еластографії встановлювали шириною 5 мм, ділянку інтересу — 10 мм. Якісно орієнтувалися на жорсткість тканини по кольоровій шкалі у кПа від 0 до 60, де сині відтінки шкали маркували низьку, а червоні — високу жорсткість. Кількісно враховували значення жорсткості печінки в кПа в зоні контрольного об'єму.

Евтаназію тварин здійснювали за допомогою введення летальної дози уретану, після чого проводили збір крові та біоптатів для морфологічних й біохімічних досліджень.

Для гістологічних досліджень біоптати печінки фіксували в 10,0 % розчині нейтрального форма-

ліну, зневоднювали в спиртах висхідної концентрації і заливали в парафін. Гістологічні зрізи товщиною 3-5 мкм фарбували гематоксиліном і еозином та по Маллорі в модифікації Слінченко і монтували на предметні скельця. Оцінювалася мікроскопічна будова органу, наявність та характер дистрофічних змін, інфільтрація клітинами запалення та стан порталних трактів. Для цілей комп'ютерної морфометрії біоптати фотографували і здійснювали вимірювання за допомогою програми *ImageJ 1.45S* (розроблена в *National Institutes of Health*, США).

Для статистичного аналізу отриманого числового матеріалу використовували дескриптивну статистику: порівняння середніх значень змінних здійснювали за допомогою параметричних методів (t-критерію Стьюдента) за нормального розподілу даних ознак, що виражені в інтервальній шкалі. Відповідність виду розподілу ознак закону нормального розподілення перевіряли за допомогою методу Шапіто-Уїлка. 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, 2, 4, 7].

Результати та їх обговорення. Встановлено, що у щурів контрольної групи на гістологічному дослідженні будова печінки була збережена, ознак інфільтрації не спостерігалось (рис. 2). Синусоїди були помірно розширені, з невеликою кількістю клітин крові. Жирова дистрофія гепатоцитів, клітини у стані еозинофільної дегенерації ті інші ознаки токсичного ураження були відсутні.

При сонологічному дослідженні живих тварин жорсткість печінки становила ($5,41 \pm 0,24$) кПа, знекровленої печінки — ($8,36 \pm 0,45$) кПа, а при дослідженні фантома — ($4,17 \pm 0,20$) кПа.

Таким чином, знекровлення печінки в нормі призводило до значного підвищення жорсткості за рахунок спазму кровоносних капілярів у момент смерті, та ще більшого їх спадіння після забору крові для дослідження (рис. 2). Цей об'єм мав тенденцію до відновлення за рахунок абсорбції фізіологічного розчину під час дослідження *in vitro*, з надлишком, який у перерахунку на жорсткість становив 22,9 % (таблиця).

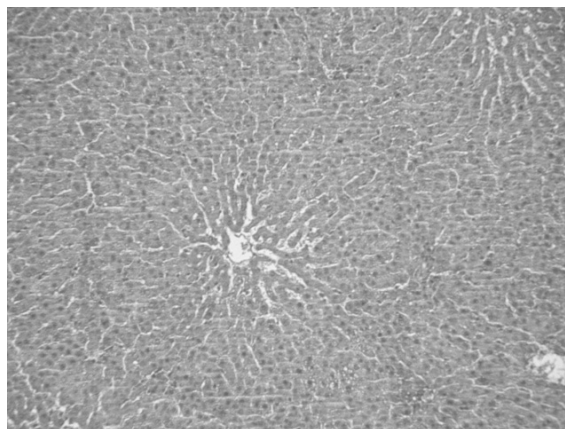
Після 60 діб від початку хронічної напівпримусової алкоголізації та 10 добового введення алкоголю в печінці щурів I групи розвивався комплекс характерних структурних змін. В основі цих змін лежала дифузна розповсюджена мікроеваскулярна жирова дистрофія, яка залучала до 80 % всіх клітин. Крім цього, в 83,3 % випадків спостерігалися осередки дрібно- та середньокрапельної жирової

дистрофії, здебільшого в 3-й зоні ацинуса, навколо центральної вени (рис. 3А). Слід також звернути увагу на велику кількість клітин у стані еозинофільної дегенерації, які були розташовані поодинокі, або групами у 2-й та 3-й зонах (рис. 3Б).

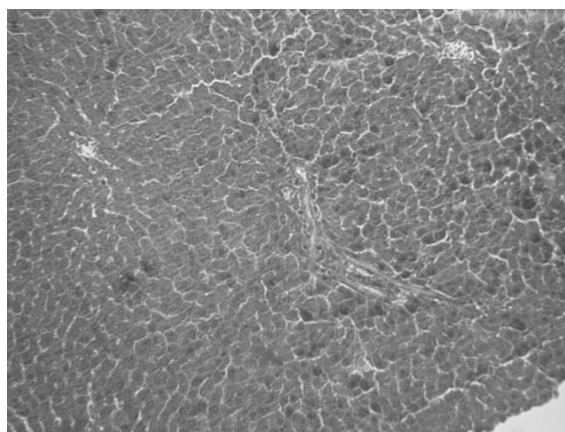
Жорсткість паренхіми печінки у тварин різних груп, кПа ($M \pm m$)

Група	n	<i>in vivo</i>	Знекровлення	<i>in vitro</i>
Контрольна	21	5,41±0,24	8,36±0,45**	4,17±0,20**
I	19	5,03±0,20	7,13±0,26**	3,42±0,34**
II	18	4,78±0,12*	5,09±0,19**	3,56±0,29
III	27	8,42±0,52**	11,40±0,98*#	5,54±0,43**
IV	24	13,05±0,79***	11,54±0,41**	8,26±0,61***

Примітки: * — $P < 0,05$, ** — $P < 0,01$, *** — $P < 0,001$ порівняно з відповідною контрольною групою, # — $P < 0,05$; ** — $P < 0,01$ порівняно з відповідною групою *in vivo*.

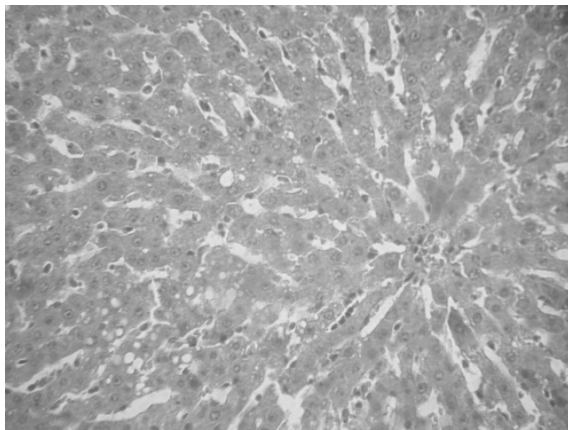


А

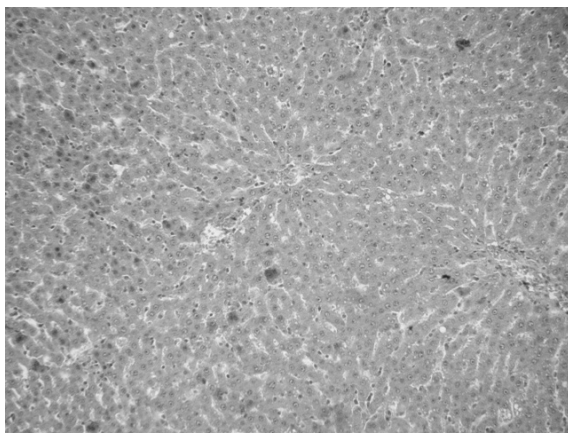


Б

Рис. 2. Печінка щура контрольної групи. А) будова збережена, гістологічні ознаки гепатиту відсутні. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. x100; Б) відсутність ознак фіброзу. Забарвлення по Маллорі в модифікації Слінченко, зб. x100.



А



Б

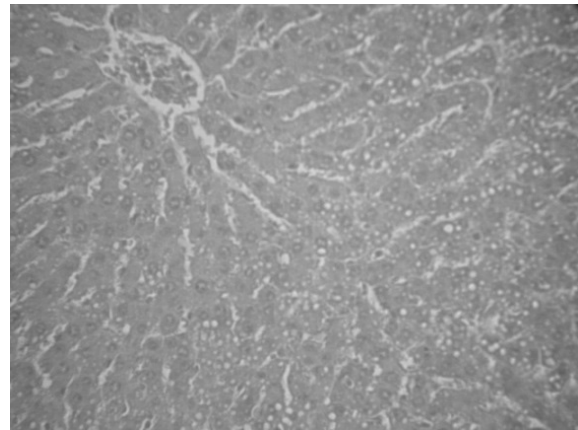
Рис. 3. Печінка щура, який отримувал алкоголь (І група): А) розсіяна мікроезикалярна жирова дистрофія, осередок середньокрапельного стеатозу. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х200. Б) групи гепатоцитів у стані еозинофільної дегенерації. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х100.

При сонологічному дослідженні тварин І групи жорсткість печінки *in vivo* становила ($5,03 \pm 0,20$) кПа, знекровленої печінки — ($7,13 \pm 0,26$) кПа, при дослідженні фантома — ($3,42 \pm 0,34$) кПа.

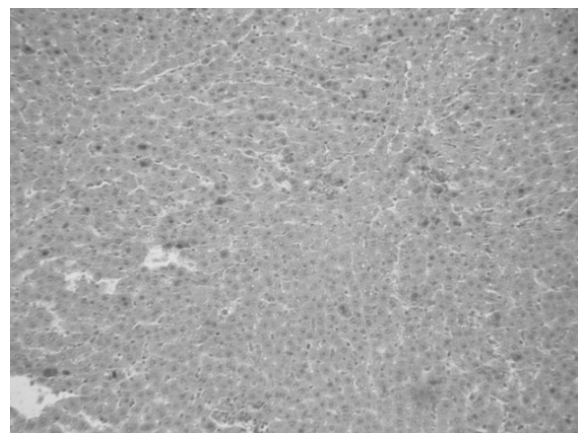
Варто відзначити, що посередкованою ознакою активності процесу при алкогольному гепатозі було загальне розширення синусоїдів. Так, у порівнянні з контролем, ми спостерігали збільшення діаметру синусоїдів від ($10,55 \pm 3,32$) мкм до ($27,48 \pm 11,67$) мкм, що також вирішальним чином вплинуло на зміни жорсткості печінки. Надлишок за рахунок абсорбції фізіологічного розчину під час дослідження *in vitro* становив 32,0 % (див. табл. 1).

При надлишку оксиду азоту на фоні тривалої алкоголізації (група ІІ) в 100 % випадків відзначався розвиток хронічного гепатозу. На відміну від І групи мікроезикалярна жирова дистрофія була менш помітна у зв'язку з великою кількістю дріб-

них ліпідних крапель в цитоплазмі більшості клітин (рис. 4А). Клітини в стані еозинофільної дегенерації зустрічалися також досить часто, але дещо рідше, ніж у попередній групі, та налічували $12 \pm 3,5$ на кожні 100 гепатоцитів (рис. 4Б).



А

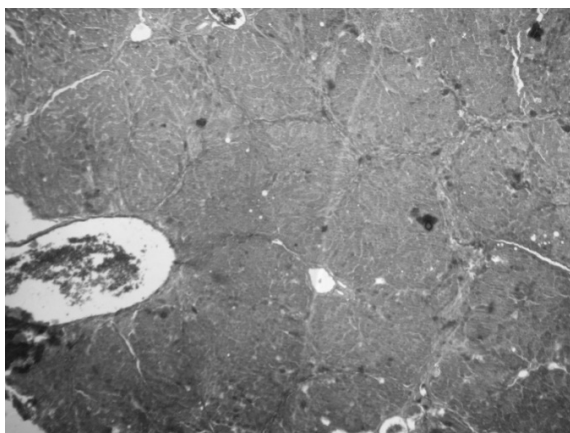


Б

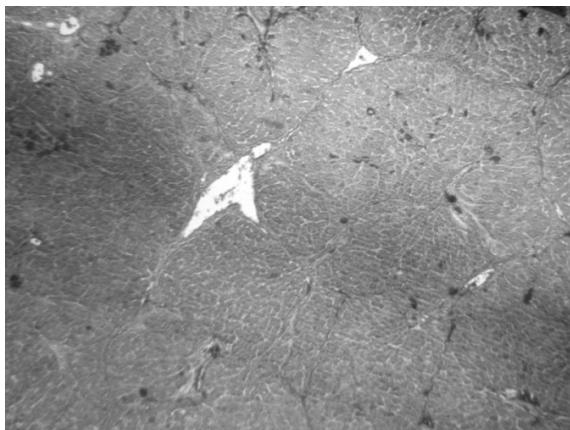
Рис. 4. Печінка щура, який отримувал алкоголь та донатор NO (ІІ група): А) розсіяна дрібнокрапельна жирова дистрофія. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х200; Б) групи гепатоцитів у стані еозинофільної дегенерації. Забарвлення гематоксиліном та еозином, зб. х100.

При сонологічному дослідженні тварин ІІ групи жорсткість печінки *in vivo* становила ($4,78 \pm 0,12$) кПа, знекровленої печінки — ($5,09 \pm 0,19$) кПа, при дослідженні фантома — ($3,56 \pm 0,29$) кПа. Надлишок за рахунок абсорбції фізіологічного розчину під час дослідження *in vitro* становив 25,5 %, що було значно менше, ніж у групах контролю та звичайної алкоголізації (див. табл. 1). Усе це, а також повна відсутність інфільтрації, дозволяють провести паралелі з подальшою хронізацією гепатозу, в якій дисбаланс захисної системи NO відіграє одну з важливих ролей.

У відповідь на вплив тетрахлористого вуглецю в печінці експериментальних тварин розвивався мікро- макронодулярний цироз, дрібно-средньокрапельна жирова дистрофія по периферії часточок та поширена зерниста дистрофія. Відзначалася проліферація жовчних проток, тонкі фіброзні септи з більш вираженим фіброзуванням у ділянці портальних трактів (рис. 5). Ознаки фіброзування було підтверджено при вимірюванні комп'ютерного індексу фіброзу (КІФ), який представляє собою відношення видимої сполучної тканини до функціональної. Так, у тварин цієї групи КІФ становив від 0,160 до 0,179 (середнє значення $0,167 \pm 0,025$).



А



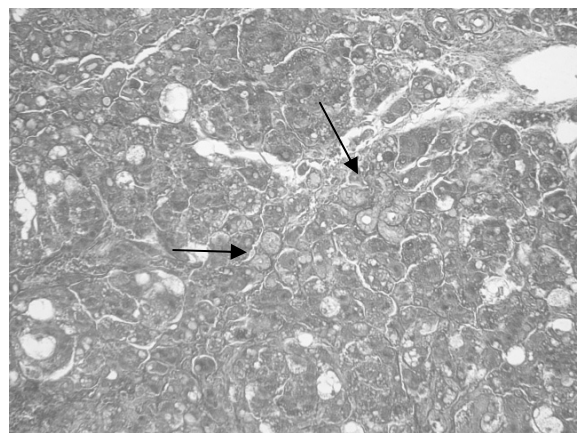
Б

Рис. 5. Печінка щура після підшкірного введення тетрахлорметану (III група). Макронодулярний цироз (А) та поширена зерниста дистрофія (Б). Забарвлення за Маллорі в мод. Слінченко, зб. $\times 100$.

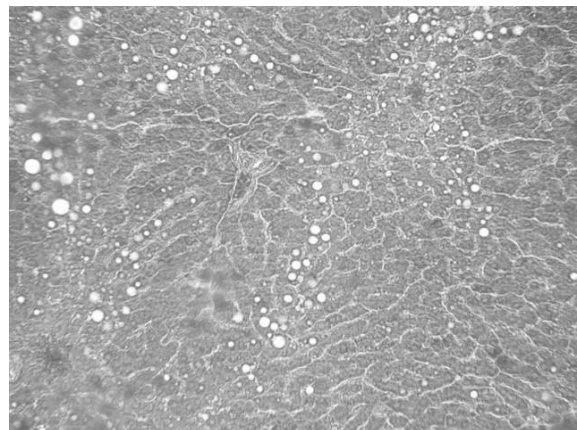
При сонологічному дослідженні тварин III групи жорсткість печінки *in vivo* була виражено підвищеною — $(8,42 \pm 0,52)$ кПа, на матеріалі знекровленої печінки — $(11,40 \pm 0,98)$ кПа, та $(5,54 \pm 0,43)$ кПа

при дослідженні в умовах фантома. Надлишок за рахунок абсорбції фізіологічного розчину під час дослідження *in vitro* становив 34,2 %, що було дещо вищим, ніж у групах контролю та звичайної алкоголізації (див. таблицю).

У порівнянні з експериментальною моделлю цирозу у щурів II групи, які отримували лише CCl_4 , додатковий вплив донатора NO у IV групі викликав у щурів виражене порушення структури печінки, в основі якого лежала трансформація портальних трактів, розширення центральних вен та поширений апоптоз. Однією із найбільш помітних ознак в цій групі було розширення та проліферація жовчних проток з гіперплазією епітелію (рис. 6).



А



Б

Рис. 6. Печінка щура після підшкірного введення тетрахлорметану та отримання з питтям водного розчину L-аргініну (IV група): (А) виражена проліферація проток та порушення структури печінки у щурів, які приймали L-аргінін (стрілки — розширення та проліферація жовчних проток з гіперплазією епітелію) у порівнянні із збереженою структурою у щурів, які отримували лише CCl_4 (Б). Забарвлення за Маллорі в мод. Слінченко, зб. $\times 200$.

При сонологічному дослідженні коефіцієнт жорсткості печінки *in vivo* був найбільш виражено підвищеним та становив $(13,05 \pm 0,79)$ кПа, на матеріалі знекровленої печінки ця цифра майже не відрізнялася від отриманої в III групі — $(11,54 \pm 0,41)$ кПа, та $(8,26 \pm 0,61)$ кПа при дослідженні фантома. Надлишок за рахунок абсорбції фізіологічного розчину становив 36,7 %, що також було самим високим із отриманих значень.

Слід відзначити, що в роботі О. Б. Динника та співавт. [2] моделювання неалкогольного стеатогепатозу у щурів проводилося за допомогою спеціальної дієти, яка складалася майже з 30 % рослинної олії. Така печінка у фізіологічному розчині мала гідрофобні властивості. В цьому дослідженні не було отримано такої вираженої різниці між жорсткістю печінки *in vivo*, знекровленої та фантома. У запропонованих нами моделях печінка, навпаки, мала гідрофільні властивості, що було підтверджено при зважуванні печінки до і після її перебування у фізіологічному розчині при температурі 36 °C протягом 20 хв. Її маса в середньому збільшилася на 5-7 %, що пояснюється саме дослідженим нами надлишком за рахунок абсорбції імерсійної рідини.

В умовах дослідження впливу надлишку оксиду азоту на формування цирозу печінки на IV групі тварин, які отримували розчин L-аргініну протягом хронічного отруєння олійним розчином тетрахлорметану, було встановлене зростання жорсткості паренхіми печінки, у порівнянні з тваринами на стандартному раціоні. Цей феномен можна пояснити тим, що L-аргінін викликає посилення киснезалежних синтетичних процесів у печінці, зокрема, пов'язаного з мітохондріальними поліферментними системами біосинтезу жовчних кислот, з одночасною активацією в гепатоцитах тканинного дихання. Разом з тим, L-аргінін пригнічує холерез, що не пов'язано з його здатністю бути донором утворення оксиду азоту [13]. Все це на фоні зростання кровопостачання печінки під впливом NO може призводити до зростання швидкості об'ємного поглинання гепатоцитами токсиканта. Зважаючи на дані літератури про те, що L-аргінін не призводить до збільшення парціального тиску кисню в печінці [13], а тетрахлорметан викликає тяжку тканинну гіпоксію [8], можна припустити існуючу ймовірність потенціювання патогенезу цирозу. До того ж, слід зауважити, що L-аргінін через потенційну можливість створювати зв'язок з тетрахлорметаном збільшує біодоступ-

ність останнього, що в свою чергу може призвести до посилення гепатотоксичного ефекту.

З іншого боку збільшення деструктивних ушкоджень печінки у процесі формування циротичних змін також могло спричинити й порушення портального тиску: так, незважаючи на досить значну кількість досліджень в даному напрямку, все ще існує неоднозначність щодо вектора вазоактивної дії L-аргініну на судинне русло [9, 12]. Це пояснюється тим, що реалізація таких ефектів L-аргініну відбувається частково за участі оксиду азоту, та залежить від його безпосередньої дії. Так чи інакше, виявлені факти потребують подальшого вивчення задля розуміння глобальної картини ролі L-аргініну в патогенезі та лікуванні уражень печінки.

Висновки

1. При сонологічному дослідженні інтактних тварин за допомогою метода зсувнхвильової еластографії жорсткість паренхіми печінки *in vivo* у нормі становить $(5,41 \pm 0,24)$ кПа, при дослідженні знекровленої печінки — $(8,36 \pm 0,45)$ кПа, та при дослідженні фантома — $(4,17 \pm 0,20)$ кПа.
2. Довгострокова алкоголізація тварин призвела до розвитку жирової дистрофії, але це не вплинуло на підвищення жорсткості печінкової паренхіми, тоді як токсичний вплив CCl_4 призвів до розвитку морфологічно підтвердженого цирозу печінки із статистично достовірним збільшенням жорсткості до $(11,40 \pm 0,98)$ кПа.
3. Додатковий вплив розчину L-аргініну викликав у щурів IV групи більш виражені порушення структури печінки із характерним розширенням та проліферацією жовчних проток та перебудовою портальних трактів, що зумовило максимальне збільшення жорсткості печінкової паренхіми у щурів цієї групи — до $(13,05 \pm 0,79)$ кПа.
4. Розрахунок надлишку маси печінки внаслідок абсорбції фізіологічного розчину під час дослідження *in vitro* може служити додатковим критерієм оцінки перебудови печінкової паренхіми при розвитку хронічного алкогольного або токсичного гепатиту. Так, при цирозі цей показник був достовірно підвищеним (34,2 % та 36,7 % порівняно з 22,9 % у щурів контрольної групи), а також значно відрізнявся при моделюванні NO-індукованого впливу на мікросудинне русло печінки на фоні алкоголізації (25,5 % у порівнянні з 32,0 %).

Список використаної літератури

1. *Бабич П. Н., Чубенко А. В., Лапач С. Н.* Применение статистических методов в практике клинических исследований. Сообщение второе. Применение критерия ХИ-квадрат // Укр. мед. часопис. — 2004. — № 2. — С. 138-143.
2. *Боднар П. М., Динник О. Б., Михальчишин Г. П., Берегова Т. В.* Оцінка еластографії хвилі зсуву в діагностиці експериментальної неалкогольної жирової хвороби печінки // Журн. НАМН України. — 2011. — 17, № 4. — С. 422-430.
3. *Дереча Л. М., М'ясоєдов М. В., Беспалов Ю. Г., Носов К. В.* Активність металоферментів органів і тканин експериментальних тварин при дії етанолу // Медицина сьогодні і завтра. — 2009. — № 1. — С. 4-9.
4. *Зайцев В. М., Лифляндский В. Г., Маринкин В. И.* Прикладная медицинская статистика: учебное пособие. — СПб.: Фолиант, 2006. — 432 с.
5. *Зыкин Б. И., Постнова Н. А., Медведев М. Е.* Эластография: анатомия метода // Променева діагностика, променева терапія. — 2012. — № 2-3. — С. 107-113.
6. *Картіфузова Ж. В., Решетнік Є. М., Павлович С. І.* та ін. Вплив даларгіну на морфоструктуру тканини печінки та активність ферментів сироватки крові щурів за умов моделювання підогострого алкогольного гепатиту // Вісник наукових досліджень. — 2010. — № 1. — С. 88-91.
7. *Комаренко В. І., Янчук П. І., Цибенко В. О.* Вплив L-аргініну на ворітні судини печінки // Доповіді НАН України. — 2000. — № 5. — С. 166-168.
8. *Медведева С. Ю., Сенцов В. Г., Гетте И. Ф., Данилова И. Г.* Особенности регуляторных механизмов компенсации диффузного поражения печени при токсическом воздействии четыреххлористого углерода и полигексаметилен гуанидин гидрохлорида // Клини. токсикол. — 2014. — 15. — С. 366-380.
9. *Мойбенко О. О., Сагач В. Ф., Ткаченко М. М.* Фундаментальні механізми дії оксиду азоту на серцево-судинну систему як основи патогенетичного лікування її захворювань // Фізіол. журн. — 2004. — 50, № 1. — С. 11-30.
10. *Наконечна О. А.* Активність індикаторних ферментів печінки та вміст альбуміну в крові щурів за умов тривалої дії простих полієфірів // Медицина сьогодні і завтра. — 2008. — № 4. — С. 12-14.
11. *Самбуева З. Г., Малханова Г. Н., Павлов И. А.* и др. Влияние липосомальной формы перхлорона на морфофункциональное состояние печени и почек у белых крыс // Сибирский мед. журн. — 2009. — № 3. — С. 24-26. (12)
12. *Цибенко В. О., Янчук П. І., Комаренко В. І., Пасічниченко О. М.* Участь оксиду азоту в регуляції печінкового кровообігу // Вісн. Київського національного університету "Фізіологія. Проблеми регуляції фізіологічних функцій". — 2000. — Вип. 6. — С. 13-16.
13. *Янчук П. І., Бондзик О. В., Решетнік Є. М., Веселовський С. П.* Вплив L-аргініну на показник и кисневого балансу печінки та її жовчосекреторну функцію // Фізіол. журн. — 2013. — 59, № 2. — С. 31-38
14. *Abenavoli L., Milic N., Rouabhia S., Addolorato G.* Pharmacotherapy of acute alcoholic hepatitis in clinical practice // World J. Gastroenterol. — 2014. — 20, № 9. — P. 2159-2167.
15. *Burra P., Senzolo M., Adam R.* et al. Liver transplantation for alcoholic liver disease in Europe: a study from the ELTR (European Liver Transplant Registry) // Am. J. Transplant. — 2010. — 10, № 1. — P. 138-148.
16. *Jaurigue M. M., Cappell M. S.* Therapy for alcoholic liver disease // World J. Gastroenterol. — 2014. — 20, № 9. — P. 2143-2158.
17. *Leung T.-M., Tipoe G. L., Liang E. C.* et al. Эндотелиальная синтаза оксида азота как важный фактор при экспериментальном фиброзе печени // Сучасна гастроентерологія. — 2010. — № 5. — С. 109-119.
18. *Park B. J., Lee Y. J., Lee H. R.* Chronic liver inflammation: clinical implications beyond alcoholic liver disease // World J. Gastroenterol. — 2014. — 20, № 9. — P. 2168-2175.
19. *Sandrin L., Fourquet B., Hasquenoph J.-M.* et al. Transient elastography: A new noninvasive method for assessment of hepatic fibrosis // Ultrasound Med. Biol. — 2003. — № 29 — P. 1705-1713.
20. *Singal A. K., Guturu P., Hmoud B.* et al. Evolving frequency and outcomes of liver transplantation based on etiology of liver disease // Transplantation. — 2013. — 95. — P. 755-760.
21. *Won Kim, Dong Joon Kim* Severe alcoholic hepatitis-current concepts, diagnosis and treatment options // World J. Hepatol. — 2014. — 6, № 10. — P. 688-695.

Одержано 14.09.2017

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ МОРФОЛОГИЧЕСКИМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ ПЕЧЕНИ И ЖЕСТКОСТЬЮ ЕЕ ПАРЕНХИМЫ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ АЛКОГОЛЬНОГО И ТОКСИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА

Ю. М. Степанов, В. І. Діденко, О. Б. Динник*, І. С. Коненко,
Н. Ю. Ошмянская, А. А. Галинский, А. І. Руденко

Государственное учреждение "Институт гастроэнтерологии НАМН Украины", 49074 Днепр

*Государственное учреждение "Институт физиологии им. А. А. Богомольца НАН Украины", 01601 Киев

Авторами воспроизведены последовательные этапы развития хронического гепатита с помощью различных экспериментальных моделей алкогольного и токсического гепатита и на их основе изучены взаимосвязи между морфологическими изменениями печени и жесткостью ее паренхимы. Выявлено, что долгосрочная алкоголизация привела к развитию жировой дистрофии, но это не повлияло на повышение жесткости печеночной паренхимы, в то время, как токсическое воздействие CCl_4 привело к развитию морфологически подтвержденного цирроза печени со статистически достоверным увеличением жесткости до $(11,40 \pm 0,98)$ кПа. Дополнительное влияние L-аргинина привело к более выраженным нарушениям структуры печени с характерным расширением и пролиферацией желчных протоков и перестройкой портальных трактов, что обусловило максимальное увеличение жесткости печеночной паренхимы до $(13,05 \pm 0,79)$ кПа. Расчет избытка массы печени за счет абсорбции физиологического раствора при исследовании *in vitro* может служить дополнительным критерием оценки. Так, при циррозе этот показатель был достоверно повышен (34,2 % и 36,7 % по сравнению с 22,9 % у крыс контрольной группы), а также значительно отличался при моделировании NO-индуцированного воздействия на микрососудистое русло печени на фоне алкоголизации (25,5 % по сравнению с 32,0 %).

ASSOCIATION OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE LIVER PARENCHYMA AND ITS RIGIDITY UNDER THE CONDITIONS OF THE EXPERIMENTAL MODELING OF ALCOHOLIC AND TOXIC HEPATITIS

Yu. M. Stepanov, V. I. Didenko, O. B. Dynnik*, I. S. Konenko,
N. Yu. Oshmianskaia, A. A. Galinsky, A. I. Rudenko

State institution "Institute of gastroenterology NAMS Ukraine", 49074 Dnipro

*State institution "A. A. Bogomolets Institute of Physiology NAS Ukraine", 01601 Kyiv

Authors replicated the successive stages of the chronic hepatitis development by using a variety of experimental models of alcoholic and toxic hepatitis, and based on them studied the relationship between the morphological changes of the liver parenchyma and its rigidity. It was found that long-term alcohol intake led to the development of fatty degeneration, but it did not affect the increase in the stiffness of liver parenchyma, while toxic effects of CCl_4 led to the development of morphologically confirmed cirrhosis with a statistically significant increase in rigidity to (11.40 ± 0.98) kPa. Additional influence of L-arginine resulted in a more severe violations of the liver structure with a characteristic expansion and proliferation of the bile ducts and the restructuring of portal tracts, which resulted in an increase in the maximum rigidity of the hepatic parenchyma to (13.05 ± 0.79) kPa. Calculation of liver weight excess by absorption of saline at *in vitro* study could serve as an additional criterion for evaluation. Thus, in cirrhosis it was significantly increased (34.2 % and 36.7 % compared with 22.9 % in the control group) and also was different in the NO-induced microvascular restructuring of liver under the conditions of alcoholization (25.5 % compared to 32.0 %).