

УДК 616.33-002:546.17

ВПЛИВ ІНГІБИТОРІВ NO-СИНТАЗИ НА КРОВОНАПОВНЕННЯ ПЕЧІНКИ В УМОВАХ АЛКОГОЛЬНОЇ ІНТОКСИКАЦІЇ

Задорожня І.В., Дрегваль І.В.

Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара

Руденко А.І.

Інститут гастроентерології

Національної академії медичних наук України

Визначили основні характеристики кровонаповнення печінки при розвитку алкогольного гепатиту за допомогою методу реографії. Метод реографії дав змогу дослідити розвиток пошкодження судин печінки при алкогольному гепатиті. Дослідження стану печінки проводили без хірургічного втручання в органи тварини, тому це є найбільш прийнятливим у фізіологічних дослідженнях.

Ключові слова: реогепатографія, алкогольний гепатит, реографія, гепатограма, хронічна алкогольна інтоксикація, білірубін, етанол, судини, печінка, тетрахлоретан, нітро-L-аргінін, аміногуанідин.

Постановка проблеми. Хвороби печінки – одні з найтяжчих, широко розповсюджених і складно діагностованих захворювань органів черевної порожнини. Їх супроводжує ряд ускладнень, а клінічний перебіг і результат хвороби часто важко передбачувати. Ці захворювання мають значний вплив на стан здоров'я населення України.

З розвитком можливостей діагностики захворювань внутрішніх органів виявлено, що хвороби печінки (гепатопатії) зустрічаються набагато частіше, ніж було прийнято вважати раніше, і тому ще багато невизначених ознак захворювань у своїй основі мають гепатоз. У зв'язку з важливістю і різноманітністю функцій печінки наділена природною здатністю до високої регенерації. Тому патологічні процеси які виникають під

впливом різних факторів у печінці стають помітні та проявляються клінічно тільки в прогресуючих стадіях хвороби.

Актуальною залишається проблема прогнозування потенційної ваги цих захворювань, можливості передбачити деструктивний процес на початку хвороби.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Дослідженнями останніх років встановлено, що у розвитку різних патологічних станів організму приймає участь оксид азоту. Окисли азоту приймають участь у регуляції тону судин, а також фізіологічних функцій організму. Відомо, також що гіперактивація нітрооксидсинтази має місце у ряді патологічних процесів [1, 2, 3]. Оскільки біосинтез окислу азоту в організмі відбувається шляхом перетворень L-аргініну під впливом спе-

цифічного ферменту нітрооксидсинтази (NOS, NO-синтази). Тому одним з механізмів блокування NO-синтази являється її інгібування ефірами L-аргініну, NG-нітро-L-аргінін (L-NNA) – використовується переважно для гальмування активності конститутивної ізоформи [2].

Виділення не вирішених раніше частин загальної проблеми. Є дані про те, що аміногуанідин (АГ) оборотно інактивує індукцибельну ізоформу NO-синтази, змінюючи конформацію білка і ковалентно зв'язуючись з геном, але без зміни його структури. АГ зменшує експресію індукцибельної ізоформи NO-синтази [3]. Дані літератури щодо ролі системи азоту в патологічних процесах печінки є недостатніми та суперечливими.

На сьогодні один з використовуваних методів діагностики внутрішньо-печінкового кровообігу є метод реографії. Метод заснований на реєстрації коливань електричної провідності, викликані змінами кровонаповнення печінки в період серцевого циклу при пропущенні електричного струму високої частоти [4]. Це неінвазійний метод дозволяє реєструвати електричний опір. Ці зміни електричного опору відбуваються в ритмі скорочення серця й залежать від змін обсягу крові, що протікає у судинній системі печінки. Дана методика безпечна, проста у використанні та аналізі отриманих результатів, досить інформативна, а також може при необхідності застосовуватися багаторазово на одній тварині. Цей метод проводиться без хірургічного втручання до внутрішніх органів тварини, тому є найбільш використовуваним у фізіологічних дослідженнях.

Мета статті. Головною метою цієї роботи є вивчення впливів інгібіторів NO-синтази на основні характеристики гемодинаміки печінки в умовах моделювання розвитку патологічних процесів печінки щурів за допомогою методу реографії, а також їх порівняння.

Виклад основного матеріалу. Реогепатографія вважається високочутливим і ефективним методом для якісної оцінки стану кровопостачання, важливий для діагностики порушень кровообігу органів або ураження всієї судинної системи організму.

Методи дослідження. Дослідження проводили на 30 нелінійних білих щурах-самцях лінії Вістар масою 180-240 г віком 6 місяців, яких утримували на стандартному раціоні віварію. Перед введенням щурів до експерименту проводили їх огляд, зважування та карантинні заходи.

Всі експерименти були проведені відповідно з існуючими міжнародними вимогами і нормами гуманного відношення до тварин та загальних принципів експериментів на тваринах, ухвалених на I Національному конгресі з біоетики (Київ, 2000). Експериментальних тварин було поділено на 3 групи: контрольну – тварини, яким вводили відповідний об'єм ізотонічного розчину; 2 дослідні – тварини з експериментально змодельованим хронічним гепатитом, у кожній 10 щурів. За 16-20 годин до експериментів тварин піддавали харчовій депривації та вільному доступу до води. Щурам експериментальної групи вводили препарат аміногуанідин та тетрахлорметан. Дослідження проводили через сорок п'ять днів упродовж введення даних препаратів.

При введенні етанолу та блокатора аміногуанідина на реограмі печінки щурів спостерігалось змен-

шення артеріального припливу (показник α). Що є однією з причин недостатнього насичення киснем тканини печінки і сильним ураженням артеріол.

Також за даними реограм печінки щурів спостерігалось зменшення показника (α/β), який відображає тонус та еластичність судинної стінки печінки, це може свідчити про зміну будови органу та патологічні процеси у печінкових клітинах – гепатоцитів, що може призвести до печінкової недостатності. Зміна еластичності судинної стінки (β) судів печінки призводить до порушення функціонування антиоксидантної системи гепатоцитів, що збільшує ризик розвитку пошкоджень малих та середніх судин печінки. Зважаючи на це, можна припустити що збільшення припливу крові із воротної вени у печінку пов'язано з різким ураженням великих судин печінки. Ймовірно відбувається обструкція малих і великих печінкових вен, печінкового відділу нижньої порожнистої вени, в результаті чого можуть з'являтися запальні процеси у органі, які надалі приводять до цирозу та гепатиту печінки. Результати досліджень представлені на рисунку 1.

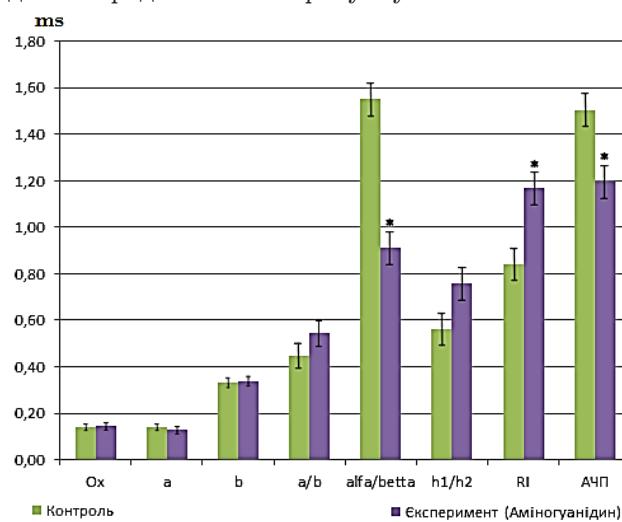


Рис. 1. Зміна показників реогепатограми щурів з блокатром аміногуанідин

* – вірогідність при $p < 0,05$ (за Стьюдентом)

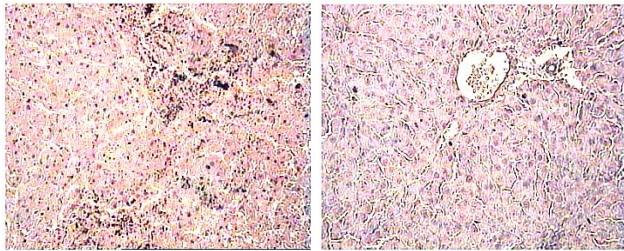
Зниження судинного тонусу у печінці (показник α/β) веде до зменшення продукції Т-лімфоцитів, пригнічення продукції інтерлейкінів, γ -інтерферону, фактора некрозу пухлин [5]. За нашою теорією є вірогідність, що зменшення продукції Т-лімфоцитів впливає на роботу системи циклічних нуклеотидів та блокує перехід з однієї фази клітинного циклу в іншу.

Дані морфологічних досліджень показують, що значна частина гепатоцитів переходить в стан жирової дистрофії. Між жировими клітинами з'являються кров'яні згустки, що свідчить про застій крові в ураженій печінці. Це може слугувати появою патологічних та запальних процесів у печінці. (Рис. 2.б).

Порівнюючи рисунки 2а і 2б можна помітити появу в цитоплазмі окремих гепатоцитів скупчення еозинофільного речовини – алкогольного гіаліну.

Тільця Мелорі оточені групами нейтрофільних лейкоцитів, що призведе до вираженого склерозу стінок центральних вен печінки та без-

перервному руйнуванню малих печінкових вен в результаті чого можна припустити, що відбувається вихід речовин, які містять мідь, в кров. Це зазвичай призводить до значного спаду кровопостачання печінки, яку ми спостерігали за показниками реогепаатограми (показник α/β).



а) б)

Рис. 2. Клітки печінки тварини

Примітка: а) стан клітин печінки щура контрольної групи; б) стан клітин печінки після введення протягом чотирьох тижнів етанолу та блокатора аміногуанідина

Враховуючи морфологічні дані (рис. 2б) із зміненними клітинами печінки хворих тварин, можна стверджувати, що довготривале вживання етанолу та блокатора аміногуанідина призводить до дистрофії малих судин та зниження вмісту NO в тканинах печінки. Жирова тканина у гепатоцитах, яка тисне на малі судини печінки, зменшує їх діаметр, через що вони не можуть повноцінно насичувати кров'ю орган. Еластичність стінок судин великого діаметру знижується, що призводить до переповнення кров'ю хворого органу. Таким чином відбувається застій крові у печінці. Кров'яний тиск, який підвищується через падіння тону еластичності судин великого діаметру, призводить до того, що затиснуті малі судини не в змозі транспортувати всю кров через хворий орган.

За допомогою отриманих даних реогепаатографії печінки можна припустити, що розвиток циротичного ураження печінки, морфологічно підтвердженого наявністю вираженого склерозу перипортальних полів і формуванням псевдочасток, супроводжується зниженням вмісту ендотеліальної і наростанням індукційної NO-синтази (iNOS), збільшенням концентрації стабільного метаболіту оксиду азоту нітританіона в крові і його зменшення у печінці. Активація показників системи оксиду азоту супроводжується зростанням продукції прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-6 і TNF- α .

Зниження тону великих судин (показник реограми a/b) вірогідніше призводить до дефіциту кисню у крові, яка проходить через печінку, що може слугувати початком серйозних порушень її процесів. Крім того, можуть порушуватися функції великих судин, що також свідчить про пошкодження постачання ферментів, які містять мідь та задіяні у окисно-відновних реакціях, синтезі нейротрансмітерів, активації пептидних гормонів.

Дослідження впливу тетрахлорметану (CCl₄) представлено на рисунку 3. Введення (CCl₄) призвело до різкого підвищення показника (a), який відображає час кровонаповнення великих судин печінки. Також збільшився показник (Ox), що відображає час розповсюдження пульсової хвилі

та показник (b), який відображає час виходу венозної крові з печінки у порівнянні з контрольними, що свідчить про зменшення кровонаповнення ураженого органу і можливого застою крові.

Як відомо, пошкодження печінки реалізується через активацію процесів пероксидації, оскільки (CCl₄), потрапляючи до організму, перетворюється на радикал CCl₃, який ініціює окислення вільно радикального типу [6], що приводить до утворення мембранних дефектів і порушення структурно-функціонального стану клітинних мембран, збільшення їх проникності та до пошкодження печінкової паренхіми. Зміни показника (α/β) реограми печінки щурів дозволяють діагностувати патологічні процеси, що розвиваються у структурно-функціонального стану клітинних мембран.

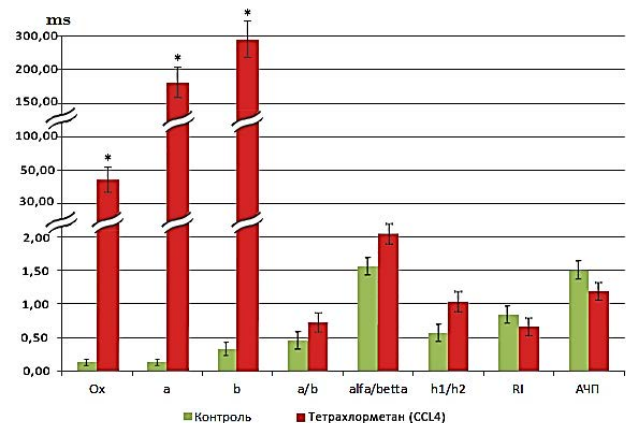


Рис. 3. Зміна показників реогепаатограми щурів з блокатором

* – вірогідність при $p < 0,05$ (за Стьюдентом)

Згідно результатів наших досліджень порівнюючи контрольну та експериментальну групи, ми встановили, що двотижневе введення CCl₄ призводить до токсичного пошкодження печінки, внаслідок чого це може сприяти більш швидкому розвитку алкогольного гепатиту. Механізм цього обмеження обумовлений тим, що NO здатний сповільнювати обумовлення вільно радикального типу, діючи як скавенджер активних метаболітів кисню [4], а також може змінювати активність ферментів антиоксидантної стрес-лімітуючої системи [1, 5] і експресію генів, що кодують ці ферменти [6]. Незважаючи на те, що порушення при припиненні дії токсину CCl₄ оборотні, тривале його застосування призводить до формування гепатиту та розвитку цирозу печінки [7].

Висновки і пропозиції. Розвиток гострого алкогольного гепатиту у відповідь на вплив CCl₄ у тварин супроводжувався менш поширеною жировою дистрофією з локальними фокусами некрозу. Локалізована жирова дистрофія, переважно в першій зоні ацинуса, елементи балонної дистрофії. Показники реограми печінки щурів збільшуються (рис. 3), що свідчить про застій крові в ураженій печінці, портальні тракти і, особливо, синусоїди розширенні, переповненні кров'ю. Таким чином реограма печінки щурів дає можливість виявляти зміни гемодинаміки печінки залежно від тяжкості патологічного процесу. Отриманні дані мають значення в оцінці функціонального стану кровотоку печінки.

Список літератури:

1. Кошель В. М. Вивчення показників ліпідного обміну та вільнорадикального окиснення при гепатиті / В. М. Кошель, І. М. Ліщ, Н. С. Лісничук // Наук. записки. Сер. Біологія. – 2007. – Т. 3. – № 2. – С. 179-186.
2. Tunon M. J. An overview of animal models for investigating the pathogenesis and therapeutic strategies in acute hepatic failure / M. J. Tunon, J. Alvarez, J. M. Culebras et al. // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15. – P. 3086-3098.
3. Ogctman Z. The effect of aminoguanidine on blood and tissue lipid peroxidation in jaundiced rats with endotoxemia induced with LPS / Ogctman Z. et al // J. Invest Surg. 2006 Vol. 19, № 1. – P. 19-30.
4. Чечуй О. Ф. Вплив кадмію хлориду на метаболічні показники у крові та печінці щурів за умов їх токсичного отруєння / Чечуй О. Ф., Мілевський А. Д. // Збір. наук. праць Харківського нац. пед. ун-ту ім. Г. С. Сковороди. Сер. Біологія та валеологія. – 2012. – Вип. 14. – С. 100-106.
5. Рожковський Я. В. Патогенетичні механізми порушення імунологічної резистентності організму за умов формування стрес-синдрому та шляхи їх фармакологічної корекції: Автореф. дис. д-ра мед. наук: 14.03.05 / Я. В. Рожковський; Одес. держ. мед. ун-т. – О., 2002. – 34 с.
6. Лелевич С. В. Коррекция метаболических нарушений у крыс при прерывистой алкогольной интоксикации / С. В. Лелевич, В. В. Лелевич, Е. В. Барковский // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 7. – С. 31-34.
7. Gressner A. M. Non-invasive biomarkers for monitoring the fibrogenic process in liver: a shot survey / A. M. Gressner, C. F. Gao, O. A. Gressner // World J. Gastroenterol. – 2009. – Vol. 15. – P. 2433-2440.

Задорожна І.В., Дрегваль І.В.

Днепропетровский национальный университет имени Олеся Гончара

Руденко А.И.

Институт гастроэнтерологии

Национальной академии медицинских наук Украины

ВЛИЯНИЕ ИНГИБИТОРОВ NO-СИНТАЗЫ НА КРОВОПОЛНЕНИЕ ПЕЧЕНИ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ**Аннотация**

Определили основные характеристики кровополнения печени при развитии алкогольного гепатита с помощью метода реографии. Метод реографии позволил исследовать развитие повреждения сосудов печени при алкогольном гепатите. Исследование состояния печени проводили без хирургического вмешательства в органы животного. Исследовать животное можно на разных этапах патологического процесса, поэтому это наиболее благоприятно при физиологических экспериментах.

Ключевые слова: реогепатография, алкогольный гепатит, реография, гепатограмма, хроническая алкогольная интоксикация, этанол, печень, тетрахлоэтан, нитро-L-аргинин, амингуанидин.

Zadorozhna I.V., Dregval I.V.

Dnipropetrovsk O. Honchar National University

Rudenko A.I.

Institute of Gastroenterology

of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine

THE EFFECT OF INHIBITORS NO-SYNTHASE ON BLOOD SUPPLY LIVER DURING AN ALCOHOLIC INTOXICATION**Summary**

The main characteristics of blood supply to the liver in the development of alcoholic hepatitis was investigated by the rheography method. Method reography allowed to explore the development of vascular damage of the liver with alcoholic hepatitis. The study of the liver was performed without surgery in organs of the animal. Explore the animal may be at different stages of the pathological process, so this is the most favorable in physiological experiments.

Keywords: alcoholic hepatitis, rheography, hepatogram, chronic alcohol intoxication, bilirubin, ethanol, liver, tetrachloroethane, nitro-L-arginine, aminoguanidine.