

РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ТА NO-СИНТАЗИ ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЗА УМОВИ ВВЕДЕННЯ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ

РІВЕНЬ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ ТА NO-СИНТАЗИ ПРИ ГОСТРОМУ ТОКСИЧНОМУ ГЕПАТИТІ ТА ЗА УМОВИ ВВЕДЕННЯ МОДУЛЯТОРІВ СИНТЕЗУ ОКСИДУ АЗОТУ – Вивчали зміни вмісту прозапальних цитокінів, NO-синтази та продуктів метаболізму оксиду азоту при експериментальному гепатиті та на тлі застосування модуляторів його синтезу. Встановлено, що при гострому токсичному ураженні печінки спостерігають зниження вмісту стабільних метаболітів NO в печінці та наростання їх концентрації в крові, зменшення рівня eNOS з вираженням наростанням кількості iNOS та концентрації прозапальних цитокінів. Препарати оксиду азоту сприяють активації синтезу NO, зниженню вмісту прозапальних цитокінів та експресії індукцибельної iNOS, при цьому спостерігають зростання вмісту eNOS. Застосування неселективного блокатора NOS L-NAME призводить до зниження рівня NO_2^- та NO_3^- , концентрації eNOS та iNOS на тлі високого рівня IL-1 β , IL-6 та TNF- α . Блокування iNOS-індукованого синтезу NO призводить до зміни вмісту нітрит- і нітрат-аніонів та зниженні активності iNOS як у крові, так і в печінці. Аміногуанідин при токсичному гепатиті знижує концентрацію IL-1 β , а мелатонін – IL-1 β і TNF- α .

УРОВЕНЬ ПРОВСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ И NO-СИНТАЗЫ ПРИ ОСТРОМ ТОКСИЧЕСКОМ ГЕПАТИТЕ И В УСЛОВИИ ВВЕДЕНИЯ МОДУЛЯТОРОВ СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА – Изучали изменения содержания провоспалительных цитокинов, NO-синтазы и продуктов метаболизма оксида азота при экспериментальном гепатите и на фоне применения модуляторов его синтеза. Установлено, что при остром токсическом поражении печени наблюдается снижение содержания стабильных метаболитов NO в печени и нарастание их концентрации в крови, уменьшение уровня eNOS с выраженным нарастанием количества iNOS и концентрации провоспалительных цитокинов. Препараты оксида азота способствуют активации синтеза NO, снижению содержания провоспалительных цитокинов и экспрессии индуцибельной iNOS, при этом наблюдается рост содержания eNOS. Применение неселективного блокатора NOS L-NAME приводит к снижению уровня NO_2^- и NO_3^- , концентрации eNOS и iNOS на фоне высокого уровня IL-1 β , IL-6 и TNF- α . Блокирование iNOS-индуцированного синтеза NO приводит к изменению содержания нитрит- и нитрат-анионов и снижению активности iNOS как в крови, так и в печени. Аминогуанидин при токсическом гепатите снижает в крови концентрацию IL-1 β , а мелатонин – IL-1 β и TNF- α .

PROINFLAMMATORY CYTOKINES AND NO-SYNTHASE LEVEL AT ACUTE TOXIC HEPATITIS AND USAGE OF NITRIC OXIDE MODULATORS – We studied the changes in the content of proinflammatory cytokines, NO-synthase and metabolic products of nitric oxide in experimental hepatitis and during treatment with modulators of its synthesis. In acute toxic liver injury a reduction of stable NO metabolites in the liver and an increase of their concentration in blood, decreasing eNOS with a significant increase of iNOS and concentrations of proinflammatory cytokines were observed. Nitric oxide precursors contribute to the activation of synthesis NO, reduce the content of proinflammatory cytokines and inducible expression of iNOS, while content of eNOS increase. The usage of non-selective NOS blocker L-NAME leads to the reduction of NO_2^- and NO_3^- , eNOS and iNOS concentration on the background of high IL-1 β , IL-6 and TNF- α level. Blocking iNOS-induced NO synthesis leads to changes in the capacity of nitrite and nitrate anions and reduces activity of iNOS in the liver and blood. Aminoguanidine in toxic hepatitis reduces IL-1 β concentration in blood, melatonin - IL-1 β and TNF- α .

Ключові слова: гепатит, оксид азоту, цитокіни.

Ключевые слова: гепатит, оксид азота, цитокины.

Key words: hepatitis, nitric oxide, cytokines.

ВСТУП Цитокіни – це ендогенні, біологічно активні поліпептидні медіатори, що являють собою обширну гетерогенну групу низькомолекулярних, неспецифічних стосовно антигенів, білків-глікопротеїдів, які продукуються активованими клітинами різних типів, у тому числі макрофагами і купферівськими клітинами печінки, у відповідь на зовнішній позаклітинний стимул і беруть участь у формуванні та регуляції захисних реакцій організму [1]. Гепатоцити дуже чутливі до дії цитокінів, так як містять на своїй поверхні цілий ряд специфічних рецепторів, через які здійснюється регуляція процесів білкового синтезу, проліферації, диференціації, спеціалізованого функціонування та апоптозу клітин печінки [2].

Згідно з даними літератури, у відповідь на пошкодження тканини печінки і запалення, індуковане різноманітними ксенобіотиками, в тому числі чотирихлористим вуглецем, синтезується велика кількість оксиду азоту. Більшість дослідників значне підвищення концентрації NO пов'язує з активацією індукцибельної NO-синтази [3]. Відомо, що дана ізоформа ферменту активується едотоксинами та прозапальними цитокінами. Результати експериментальних досліджень показали, що ураження печінки тетрахлорметаном супроводжувалося підвищенням експресії печінкової mRNA TNF- α і самого TNF- α в сироватці крові, одночасно зі зростанням вмісту білка індукцибельної NO-синтази в печінці, а прозапальний IL-1 сам може бути ефективним стимулятором iNOS в гепатоцитах [4, 5].

Метою нашого дослідження стало вивчення взаємодії систем прозапальних цитокінів та L-аргінін – NO в розвитку гострого токсичного ураження печінки. З'ясування ролі оксиду азоту в патогенезі ураження здійснювали шляхом застосування попередників та блокаторів його утворення.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ Дослідження проводили на 36 білих щурах-самцях. Гострий токсичний гепатит моделювали одноразовим внутрішньочеревним введенням тетрахлорметану в розрахунок 2 г/кг маси тіла у вигляді 50 % олійного розчину на оливковій олії [6, 7]. Коригуючі чинники: попередники синтезу оксиду азоту L-аргінін (25 мг/кг), L-аргініну L-глутамату (препарат “Глутаргін” фірми “Здоров'я”) (L-A-L-G) (45 мг/кг), неселективний блокатор NO-синтази L-NAME (10 мг/кг), селективні інгібітори iNOS аміногуанідин (10 мг/кг) та мелатонін (10 мг/кг) – вводили інтраперитонеально, один раз на добу, щоденно протягом 2 днів. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм оливкової олії та ізотонічного розчину. Декапітацію тварин проводили під кетаміновим наркозом через 24 год після останнього введення засобів корекції. У сироватці крові за допомогою стандартних наборів реак-

тивів "Філісіт діагностика" (Україна) визначали активність АлАТ, АсАТ. У крові та печінці визначали вміст стабільних продуктів метаболізму оксиду азоту нітрит- та нітрат-аніонів (NO_2^- та NO_3^-) за методом Гріна, в модифікації І. О. Кіселика [8, 9]. Імуноферментним методом (ІФА) за допомогою тест-систем фірми "USCN Life Science Inc" в гепатоцитах та сироватці визначали експресію ендотеліальної (eNOS) та індукцибельної (iNOS) NO-синтаз. Імуноферментним методом за допомогою тест-систем фірми "USCN Life Science Inc", адаптованих до виду піддослідних тварин, у сироватці крові щурів визначали рівень прозапальних цитокінів: інтерлейкіну-1 β (IL-1 β), інтерлейкіну 6 (IL-6) та фактора некрозу пухлин- α (TNF- α).

Статистичну обробку одержаних даних виконували за допомогою Origin 7.5 (OriginLab Corp., США) та Microsoft Excel XP. Порівняння отриманих величин проводили з використанням t-критерію Стюдента та методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ Про розвиток гострого токсичного ураження печінки судили за зміною активності маркерних ферментів ураження печінки. Встановлено, що у щурів із CCl_4 -ураженням вміст у крові АлАТ був вищим в 2,5 раза, АсАТ – на 86,3 % порівняно з контролем. Відомо, що співвідношення величин АсАТ/АлАТ (коефіцієнт де Рітіса) вказує на природу пошкодження та при ураженні печінки становить більше 1, в нашому випадку він складає $2,83 \pm 0,11$. Таке значне підвищення активності амінотрансфераз зумовлене, на нашу думку, масивним пошкодженням мембран гепатоцитів та виходом ферментів у міжклітинне середовище з пошкоджених ділянок органа.

Все це відбувається на тлі зміни вмісту стабільних метаболітів L-аргініну в синтазному циклі його перетворення. Так, на 3 день експерименту ми спостерігали

ли зростання вмісту NO_2^- в сироватці крові у 2,7 раза, а в печінці його концентрація не змінювалася порівняно з контрольною групою піддослідних тварин. Рівень NO_3^- у крові та печінці знижувався на 18,1 та 22,5 % відповідно (табл. 1).

Проаналізувавши вищезазначені показники, можна стверджувати, що гостре токсичне ураження тетрахлорметаном супроводжується зниженням вмісту стабільних метаболітів NO в ураженому органі та значним його зростанням у сироватці крові. Такі результати певною мірою корелюють із вмістом ізоформ NOS в досліджуваних середовищах. Проведені дослідження показали, що концентрація індукцибельної форми ферменту зростає як у печінці (в 4,9 раза), так і у крові (в 6,3 раза), а ендотеліальної знижується (на 61,8 та 45,9 % відповідно) (табл. 2). Ми встановили наявність середньої сили кореляційної залежності між вмістом нітрит-аніону та eNOS в печінці ($r=0,56$).

Результати імуноферментних досліджень свідчать, що CCl_4 -гепатит характеризується вираженою імунною відповіддю на потрапляння токсичного агента, про що свідчить зростання, порівняно з контролем, рівня прозапальних цитокінів IL-1 β , IL-6, TNF- α в 5,5; 5,2 та 31,4 раза у сироватці крові (рис. 1).

Активізація iNOS та наростання синтезу оксиду азоту може бути результатом зростання вмісту прозапальних цитокінів. Наше припущення підтверджено встановленням тісного прямого кореляційного зв'язку між вмістом TNF- α та iNOS в крові ($r=0,89$), а також між вмістом NO_2^- та TNF- α ($r=0,94$).

Встановлено, що введення L-аргініну та L-аргініну L-глутамату (глутаргіну) тваринам із токсичним ураженням печінки тетрахлорметаном супроводжувалось покращанням показників, які вивчали.

При аналізі змін під впливом прекурсорів синтезу NO маркерних показників цитолізу встановлено, що рівні АлАТ, АсАТ у сироватці крові при корекції L-аргініном

Таблиця 1. Вміст нітрит- та нітрат-аніонів при CCl_4 -гепатиті та введенні модуляторів синтезу NO ($M \pm m$, $n=6$)

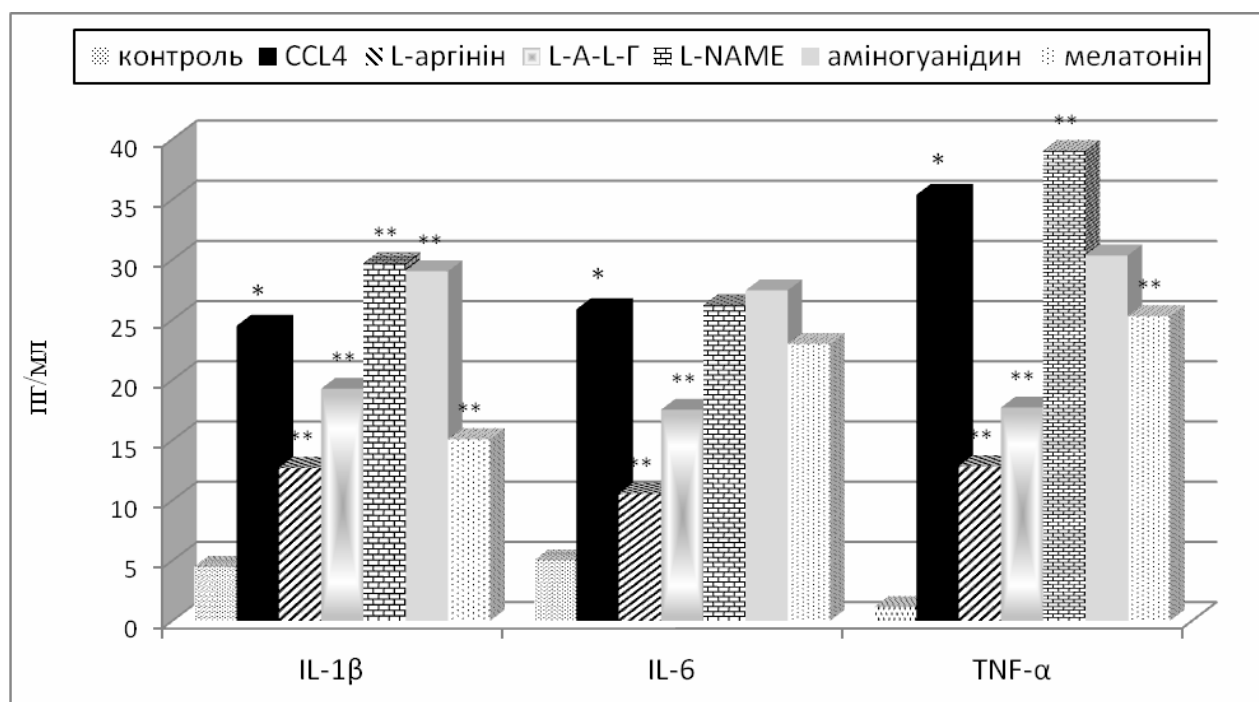
Серія дослідів	Показник			
	кров (мкмоль/л)		печінка (мкмоль/кг)	
	NO_2^-	NO_3^-	NO_2^-	NO_3^-
Контроль	$1,17 \pm 0,06$	$10,21 \pm 0,07$	$2,19 \pm 0,15$	$8,77 \pm 0,26$
CCl_4	$3,18 \pm 0,26$ $p < 0,005$	$8,36 \pm 0,18$ $p < 0,005$	$1,80 \pm 0,18$ $p > 0,05$	$6,79 \pm 0,24$ $p < 0,01$
CCl_4 + L-аргінін	$4,05 \pm 0,23$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,05$	$7,74 \pm 0,18$ $p < 0,005$ $p_1 > 0,05$	$2,38 \pm 0,18$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$10,22 \pm 0,15$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,005$
CCl_4 + L-A-L-Г	$4,42 \pm 0,14$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,01$	$7,41 \pm 0,11$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$	$2,24 \pm 0,04$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	$10,83 \pm 0,43$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$
CCl_4 + L-NAME	$2,07 \pm 0,20$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$6,36 \pm 0,25$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$	$1,26 \pm 0,07$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	$6,02 \pm 0,15$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,05$
CCl_4 + аміногуанідин	$2,55 \pm 0,07$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,05$	$6,54 \pm 0,24$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,01$	$1,52 \pm 0,09$ $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	$8,74 \pm 0,25$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$
CCl_4 + мелатонін	$1,98 \pm 0,17$ $p < 0,01$ $p_1 < 0,01$	$5,92 \pm 0,05$ $p < 0,005$ $p_1 < 0,005$	$1,88 \pm 0,07$ $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	$9,01 \pm 0,45$ $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$

Примітки. У цій і наступних таблицях:

1. p – достовірність відносно контролю;
2. p_1 – достовірність відносно групи тварин з CCl_4 -гепатитом.

Таблиця 2. Вміст eNOS та iNOS у гепатоцитах та сироватці крові за введення синтезу NO при токсичному гепатиті ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Показник			
	сироватка крові		печінка (1 мл – 1×10^6 клітин)	
	eNOS Од/мл	iNOS нг/мл	eNOS Од/мл	iNOS нг/мл
Контроль	2,33±0,26	15,38±0,82	3,79±0,17	2,30±0,34
CCl ₄	1,27±0,07 $p < 0,05$	96,51±5,21 $p < 0,001$	1,26±0,20 $p < 0,01$	11,28±0,79 $p < 0,001$
CCl ₄ + L-аргінін	3,43±0,20 $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$	53,54±1,74 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	2,26±0,20 $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$	7,20±0,34 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
CCl ₄ + L-A-L-Г	3,45±0,29 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	57,80±0,91 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	2,85±0,19 $p < 0,05$ $p_1 < 0,01$	5,56±0,26 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$
CCl ₄ + L-NAME	0,93±0,10 $p < 0,01$ $p_1 < 0,05$	23,20±1,50 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$	0,82±0,09 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	2,74±0,12 $p > 0,1$ $p_1 < 0,001$
CCl ₄ + аміногуанідин	1,28±0,08 $p < 0,01$ $p_1 > 0,1$	27,7±1,02 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	1,63±0,12 $p < 0,01$ $p_1 > 0,1$	3,28±0,26 $p > 0,05$ $p_1 < 0,001$
CCl ₄ + мелатонін	1,72±0,21 $p > 0,1$ $p_1 > 0,05$	38,88±3,06 $p < 0,001$ $p_1 < 0,001$	2,05±0,13 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	4,76±0,34 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$

Рис. 1. Вміст прозапальних цитокінів у сироватці крові тварин з токсичним ураженням печінки CCl₄ та за умови введення модуляторів синтезу оксиду азоту.

були нижчими, порівняно з аналогічними показниками в групі тварин із ураженням, на 31,9 і 11,6 % і на 40,4 та 24,2 % відповідно при введенні L-аргінину та L-глутамату.

При застосуванні L-аргінину та L-глутамату вказані позитивні зміни показників, що характеризують стан печінки, супроводжувались активацією синтезу оксиду азоту, про що свідчило зростання кількості його стабільних метаболітів NO₂⁻ та NO₃⁻ у печінці (на 24,8 та 59,4 %), порівняно з групою тварин з CCl₄-ураженням, в яких корекцію не проводили. Вміст нітрит-аніо-

ну в сироватці крові за умови введення L-аргінину та L-глутамату на 3 день експерименту зростає на 27,4 та 38,9 %, а рівень нітратів знижується на 7,5 та 11,4 % (табл. 1). Ми спостерігали однонаправлений характер впливу досліджуваних речовин на вміст ізоформ NO-синтази як в крові, так і у печінці. Результати проведених нами імуноферментних досліджень показали, що застосування L-аргінину та L-глутамату призводить до зростання вмісту eNOS в гепатоцитах при ураженні тетрахлорметаном на 55,9 та 97,1 % з одночасним

зниженням iNOS на 36,1 та 50,4 % відповідно. Однак активність індуцибельної форми ферменту залишалась вищою від показників контролю в 3,1 та 2,4 раза (табл. 2). У сироватці крові ми спостерігали аналогічну тенденцію. Індуцибельна NO-синтаза знижувалася на 24,8 та 18,8 % при введенні L-аргініну та глутаргіну, але залишалась в 2,1 та 2,3 раза вищою порівняно з контрольною групою тварин. Ендотеліальна ізоформа ферменту зростала в 2,7 та 2,7 раза відповідно до досліджуваних речовин та порівняно з показниками в щурів, у яких корекцію не проводили. Причому при застосуванні обох попередників синтезу NO її активність дещо перевищувала показники контролю.

Зменшення активності iNOS відбувається на тлі достовірного зниження вмісту в сироватці крові прозапальних цитокінів. Так, при введенні L-аргініну вміст IL-1 β , IL-6 та TNF- α знижується на 48,2; 59,2 та 63,7 %, при застосуванні глутаргіну на 21,3; 32,2 та 49,9 % відповідно (рис. 1).

У результаті проведених досліджень встановлено, що застосування неселективного інгібітора конститутивної та індуцибельної ізоформ NO-синтази N-нітро-L-аргініну метилового ефіру (L-NAME) при токсичному CCL₄-ураженні печінки призвело до ще більшого поглиблення патологічного процесу. Так, за повторного введення L-NAME жоден із аналізованих показників цитолізу не відрізнявся від аналогічних у тварин з CCL₄-гепатитом ($p > 0,05$), однак перевищував контрольні значення: АлАТ в 2,9 та АсАТ у 1,9 раза.

Встановлено, що при застосуванні L-NAME знижується концентрація стабільних метаболітів NO₂⁻ та NO₃⁻ у сироватці крові (на 35,1 та 24,0 %) та печінці (на 29,8 та 11,4 %).

Вміст ендотеліальної форми синтази оксиду азоту при введенні інгібітора NOS знижується у сироватці крові та печінці на 26,8 та 43,7 %, порівняно з групою тварин без корекції, і є на 60,4 та 78,5 % нижчим від контрольних показників, що вказує на майже повну інактивацію ферменту, особливо в ураженому органі.

Концентрація індуцибельної форми NO-синтази в даній групі тварин також знижується як у сироватці крові, так і у печінці на 76,0 та 75,7 % відповідно. Разом з тим, слід зазначити, що цей показник в крові залишається на 50,8 % вищим, а у печінці є аналогічним до контрольних значенням (табл. 2).

На тлі інгібування утворення NO-концентрація прозапальних цитокінів IL-1 β та TNF- α продовжує зростати, порівняно з CCL₄-гепатитом (на 21,2 та 10,4 %), а вміст IL-6 залишається на рівні ураження (рис. 1).

Блокування активності індуцибельної NO-синтази за допомогою селективних її інгібіторів аміногуанідину та мелатоніну призводить до лише часткового покращання функціонального стану печінки, на що вказують результати біохімічних та гістологічних досліджень.

Так, при аналізі змін маркерних показників цитолізу в сироватці крові під впливом аміногуанідину та мелатоніну встановлено, що рівень АлАТ був нижчим на 14,1 та 33,3 %, порівняно з аналогічними показниками у групі тварин із гепатитом, та залишався значно вищим від контрольних значень. Активність АсАТ за умови введення досліджуваних інгібіторів індуцибельної NO-синтази знижувалася на 19,5 та 29,5 %.

Як свідчать отримані результати, аміногуанідин та мелатонін при токсичному гепатиті спричиняли гальмування синтезу оксиду азоту в крові, на що вказувало зменшення концентрації стабільних метаболітів NO: NO₂⁻ на 20,0 та 37,9 %; NO₃⁻ на 21,8 і 29,2 %, порівняно з групою тварин із контрольною патологією (табл. 1). Причому вміст нітрат-аніону за умови введення мелатоніну в крові повертався до контрольних значень. Вплив блокаторів iNOS на вміст нітрит- та нітрат-аніону в печінці був неоднозначним. Так, за умови введення аміногуанідину відбувалося подальше, порівняно з ураженням, зниження вмісту NO₂⁻ на 15,5 %, рівень NO₃⁻ зростав на 28,4 %. За повторного введення мелатоніну тваринам з тетрахлорметановим гепатитом на 3 день експерименту вміст NO₂⁻ вірогідно не відрізнявся від групи тварин з контрольною патологією та знаходився на рівні контрольних значень. Концентрація нітрат-аніону в цій серії дослідів зростала на 32,6 % порівняно з CCL₄-гепатитом та з її відновленням до показника інтактних щурів (табл. 1).

Обидва досліджувані препарати вірогідно не змінювали концентрацію ендотеліальної ізоформи NO-синтази при ураженні CCL₄ як у крові, так і в печінці порівняно з групою тварин без корекції (табл. 2). Аміногуанідин та мелатонін достовірно знижували вміст індуцибельної NOS у крові на 71,3 та 59,7 %, у печінці на 70,6 та 57,8 % (табл. 2).

Рівень прозапальних цитокінів за селективного блокування iNOS залишався достатньо високим. Так, введення аміногуанідину достовірно не змінювало концентрації IL-6 та TNF- α в сироватці крові, а вміст IL-1 β знижувався (на 38,4 %) порівняно з контрольною патологією, однак перевищував (у 3,4 раза) показник контролю. Мелатонін зумовлював вірогідне зниження вмісту IL-1 β і TNF- α (на 38,4 та 28,5 %), не впливаючи на рівень IL-6 (рис. 1). Те, що мелатонін на відміну від іншого інгібітора iNOS аміногуанідину впливає не тільки на IL-1 β , а й на інший прозапальний цитокін TNF- α , може бути зумовлена здатністю цього гормону взаємодіяти з Toll-подібними рецепторами TLR3 та TLR4, що відіграють ключову роль в ініціації імунної відповіді [10].

Таким чином, результати наших досліджень показали, що при гострому токсичному ураженні печінки відбувається викид імуннекомпетентними клітинами значної кількості прозапальних цитокінів, що зумовлює активацію індуцибельної NO-синтази та вироблення значної кількості агресивного оксиду азоту. Інгібування його синтезу, за допомогою селективних інгібіторів iNOS, зумовлювало деяке покращання функціонального стану ураженого органа. Така частковість впливу наштовхує на думку про можливий протективний вплив цієї молекули в умовах гострого токсичного ураження. Так, за даними J. D. Laskin et al. (2001), збільшення продукції NO в ендотеліальних клітинах печінки при токсичному пошкодженні є вкрай необхідним для забезпечення явища «робочої гіперемії». При розширенні судин відбувається спрямований на відновлення порушених функцій перерозподіл кисню і пластичних ресурсів [11].

Встановлений нами кореляційний зв'язок між вмістом нітрит-аніону та eNOS в печінці може слугувати підтвердженням того, що при гострому токсич-

ному гепатиті відбувається зниження протективного eNOS-індукованого синтезу оксиду азоту. Повне блокування синтезу NO синфазним шляхом вело до поглиблення ураження печінки, що підтверджує протективну дію оксиду азоту в умовах токсичного гепатиту. Збільшення біодоступності NO шляхом введення його попередників спричинює зниження викиду прозапальних цитокінів та чинить гепатопротекторну дію.

ВИСНОВКИ 1. У патогенезі гострого токсичного гепатиту відіграє роль порушення цитокінового профілю та системи L-аргінін-оксид азоту. Про це свідчить зниження вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту в печінці та наростання їх концентрації в крові, зменшенні рівня ендотеліальної NO-синтази як в крові, так і у печінці з вираженим наростанням вмісту індукбельної форми ферменту в обох досліджуваних середовищах та прозапальних цитокінів у сироватці крові. Встановлено наявність прямої кореляційної залежності між вмістом нітрит-аніону та eNOS в печінці, TNF- α та iNOS, NO₂ та TNF- α в крові.

2. Прекурсори синтезу оксиду азоту при гострому токсичному ураженні печінки сприяють відновленню стану ураженого органа, що відбувається на тлі активації синтезу оксиду азоту, зниження вмісту прозапальних цитокінів та експресії індукбельної iNOS, при цьому спостерігається зростання вмісту ендотеліальної форми ферменту.

3. Повне інгібування ферментативного синтезу оксиду азоту шляхом застосування неселективного блокатора NOS L-NAME при гострому токсичному гепатиті призводить до подальшого поглиблення ураження печінки, про що свідчить зниження рівня його стабільних метаболітів, концентрації ендотеліальної та індукбельної форм NO-синтаз та високий рівень досліджуваних прозапальних цитокінів.

4. Встановлено, що блокування активності iNOS за допомогою селективних її інгібіторів призводить до часткового відновлення стану клітин печінки, на що вказує зниження активності ферментів цитолізу. Все це відбувається на тлі зміни вмісту нітрит- і нітрат-аніонів та зниженні активності iNOS як у крові, так і у печінці. Аміногуанідин знижує концентрацію IL-1 β , а

мелатонін – IL-1 β і TNF- α (на 38,4 та 28,5 %), не впливаючи на рівень IL-6.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Тодоріко Л. Д. Цитокіни – нова система регуляції захисних реакцій організму, їх роль у формуванні запалення / Л. Д. Тодоріко, К. В. Рихліцька // Клін. та експер. патологія. – 2004. – Т. 3, № 1. – С. 91–94.
2. Ramadori G. Cytokines in Liver / G. Ramadori, T. Armbrust // Eur. J. Gastroent. Hepatol. – 2001. – Vol. 13, N. 7. – P. 777–784.
3. NO as an indicator of portal hemodynamics and the role of iNOS in increased NO production in CC1₄-induced liver cirrhosis / M. Mizumoto, S. Arii, M. Furutani [et al.] // J. Surg. Res. – 1997. – Vol. 70, № 2. – P. 124–133.
4. Kuo P. C. Nitric oxide and acetomeniphen-Mediated Oxidative Injuri: Modulation of Interleukin -1 – induced Nitric Oxide Synthesis in cultured Rat Hepatocytes / P. C. Kuo, R. A. Schoeder, J. Loscalzo // The journal of pharmacology and experimental therapeutics– 1997. – Vol. 282, № 2. – P. 1072–1083.
5. Interleukin-1– contributes via nitric oxide to the upregulation and functional activity of the zinc transporter Zip14 (Slc39a14) in murine hepatocytes / L. A. Lichten, J. P. Liuzzi, R. J. Cousins // Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. – 2009. – Vol. 296. – P. 860– 867.
6. Janakat S. Optimization of the dose and route of injection, and characterization of the time course of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat / S. Janakat, H. Al-Merie // Journal of Pharmacological and Toxicological Methods. –2002. – Vol. 48, № 1. – P. 41–44.
7. Губський Ю. И. Коррекция химического поражения печени / Ю. И. Губський – К. : Здоров'я, 1989. – 168 с.
8. Analysis of nitrate, nitrite and [¹⁵N] nitrate in biological fluids / L. C. Green, A. W. Davie, J. Glogowski [et al.] // Analyt. Biochem. – 1982. – Vol. 126, № 1. – P. 131–138.
9. Киселик І. О. Особливості визначення нітратів та нітритів в периферичній крові у хворих на вірусні гепатити та при синдромі жовтяниці іншої етіології / І. О. Киселик, М. Д. Луцик, Л. Ю. Шевченко // Лабораторна діагностика – 2001. – № 3. – С. 43–45.
10. Kang J.-W. Melatonin protects liver against ischemia and reperfusion injury through inhibition of toll-like receptor signaling pathway / J.-W. Kang, E.-J. Koh S.-M. Lee // J. Pineal Res. – 2011. – Vol. 50. – P. 403–411.
11. Prooxidant and antioxidant functions of nitric oxide in liver toxicity / D. J. Laskin, D. E. Heck, C. R. Gardner, D. L. Laskin // Antioxid Redox Signal. – 2001. – Vol. 3(2). – P. 261–271.

Отримано 09.01.13