

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

Слободяник Людмила Олександрівна

УДК 612.35:612.14:612.15

**РОЛЬ СІРКОВОДНЮ ТА МОНООКСИДУ АЗОТУ У РЕГУЛЯЦІЇ
КРОВООБІГУ В ПЕЧІНЦІ**

03.00.13 – фізіологія людини і тварин

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Науково дослідному інституті (НДІ) фізіології імені академіка Петра Богача Навчально-науковий центр (ННЦ) «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Науковий керівник:

доктор біологічних наук, професор

Янчук Петро Іванович,

Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології», професор кафедри фізіології людини і тварин.

Офіційні опоненти:

доктор біологічних наук, професор

Шаповал Людмила Миколаївна,

Інститут фізіології імені О.О. Богомольця НАН України, провідний науковий співробітник відділу фізіології кровообігу;

доктор медичних наук, професор

Соловйов Анатолій Іванович,

Державна Установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», завідувач відділу експериментальної терапії.

Захист відбудеться "1" червня 2016 року о 12⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38 Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м.Київ, просп. академіка Глушкова, 2, ННЦ «Інститут біології», ауд. 212.

Поштова адреса: 01601, м.Київ, вул. Володимирська, 64/13, Київський національний університет імені Тараса Шевченка, ННЦ «Інститут біології»

З дисертацією можна ознайомитись у науковій бібліотеці Київського національного університету імені Тараса Шевченка за адресою: м.Київ, вул. Володимирська, 58.

Автореферат розісланий "23"квітня 2016 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 26.001.38

Т.М. Фалалєєва

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Сірководень (H_2S) і монооксид азоту (NO) належать до групи газових трансмітерів, що мають потужну судинорозширювальну дію та широко досліджуються в останні роки. Їх унікальність полягає у здатності діяти аутокринно та паракринно, а також без зв'язування з рецепторами на поверхні клітинної мембрани і без залучення вторинних посередників проникати всередину клітини та брати участь у регуляції фізіологічних процесів на рівні клітин та органів [Раваева М.Ю., 2012]. Фізіологічні ефекти H_2S та NO пов'язані з регуляцією діяльності серцево-судинної, імунної, ендокринної, дихальної, видільної, сенсорної та нервової систем [Zhu Y. et al, 2007; Kirichuk V. et al, 2008; Magierowski M. et al, 2015]. Також доведена їх важлива гепатопротекторна роль [Jha S. et al, 2008, Sarathi M. et al, 2014]. Так, сірководень сприяє покращенню процесів регенерації в печінці, запобігає окисненню ліпідів, є потужним антиоксидантом, має антиапоптозні властивості [Robert K. et al, 2005; Jha S. et al, 2008; Kang K. et al, 2009], тоді як у високих концентраціях може спричиняти патологічні стани [Truong D. et al, 2006]. Він здатний розширювати печінкову артерію, ворітну та порожнисту вени [Siebert N. et al, 2008]. Разом з тим, його донор Na_2S викликає звуження синусоїдів печінки при ендотоксемії та призводить до зростання тиску у ворітній вені [Norris E. et al, 2013].

NO сприяє посиленню антиоксидантних властивостей і підвищенню ферментативної активності печінки [Синяченко О. В., 2001; Ивашкин В.Т., 2005; Oleshchuk O. et al, 2014]. В умовах блокади NO -синтази рівень NO в плазмі крові щурів знижується, кровотік в печінці зменшується, а системний артеріальний тиск підвищується, що може призвести до розвитку гіпертензії [Yang W. et al, 2001; Gustafsson B. et al, 2005; Selamoglu Z. et al, 2015]. Попередник синтезу NO L-аргінін посилює проходження перфузату через печінку, викликаючи розширення її судин [Diesen D., 2011]. Інші дослідники на підставі ультразвукового вимірювання товщини часток печінки дійшли висновку, що NO не відіграє істотної ролі у депонуванні крові залозою [Sommerschild H. et al, 1997]. Також зазначено, що при застосуванні методу доплерографії дослідження кровотоку в залозі NO не справляє судинорозширювальну дію та не покращує загальний функціональний стан печінки при ішемії реперфузії [Gustafsson B. et al, 2005.]. Разом з тим, за результатами інших авторів NO виявляє судинорозширювальну дію в печінці і запобігає ішемічному її ураженню [Gong J. et al, 2008; Liu Y. et al, 2015].

У високих дозах (100-200 мг/кг) L-аргінін може викликати патологічні стани печінки та інших органів шлунково-кишкового тракту, зокрема підшлункової залози [Tashiro M. et al, 2001; Belkina L. et al, 2013]. На противагу цьому є відомості про те, що дози від 50 до 500 мг/кг сприяють зростанню печінкового кровообігу, посилюють надходження кисню до залози та виявляють лікувальні властивості [Ijaz S. et al, 2009].

Таким чином, вищезгадані автори подають суперечливі відомості стосовно впливу NO і H₂S на різні судини печінки. Так, при дії NO описують зміни кровотоку в магістральних судинах залози (печінковій артерії та ворітній вені), котрі є судинами опору, та зміни тонуусу цих судин, тоді як вплив даного трансмітера на тканинний кровотік в залозі та її ємнісні судини майже не вивчено. До того ж, суперечливими є свідчення стосовно дії одних і тих же доз попередника синтезу NO L-аргініну на печінкову гемодинаміку. А щодо впливу H₂S на судинне русло печінки, то це питання залишається взагалі майже не дослідженим. Надзвичайно актуальним є також з'ясування участі цих газових трансмітерів у регуляції печінкового кровообігу при портальній гіпертензії.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планам, темами. Дисертаційна робота виконана згідно плану науково-дослідних робіт НДІ фізіології імені академіка Петра Богача ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка у рамках науково-дослідної теми № 11БФ036-01 "Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій" (2011-2015 рр., № держреєстрації 0111U004648).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було з'ясувати роль газових трансмітерів сірководню та монооксиду азоту у регуляції печінкового кровообігу в нормі та за умов портальної гіпертензії.

Відповідно до мети дисертаційного дослідження поставлено наступні завдання:

- 1) вивчити вплив попередника синтезу сірководню L-цистеїну на тиск у ворітній вені, кровонаповнення печінки та тканинний кровотік в ній у щурів в досліджах *in vivo*;
- 2) з'ясувати роль цистатіонін-γ-ліази у реалізації судинорухових ефектів L-цистеїну в печінці;
- 3) дослідити дію донора сірководню NaHS на печінкову гемодинаміку;
- 4) з'ясувати роль попередника синтезу монооксиду азоту L-аргініну у регуляції депонування крові печінкою та її тканинного кровотоку;
- 5) дослідити участь L-цистеїну у регуляції кровообігу в печінці за умов портальної гіпертензії у щурів;
- 6) вивчити залучення L-аргініну до регуляції печінкового кровообігу при портальній гіпертензії.

Об'єкт дослідження: кровообіг в печінці щурів.

Предмет дослідження: регуляція сірководнем та монооксидом азоту печінкового кровообігу щурів.

Методи дослідження: фізіологічні, біохімічні, гістологічні та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Встановлено, що сірководень бере активну участь у регуляції кровообігу в печінці, свідченням чому є розширення внутрішньопечінкових судин, зумовлене внутрішньопортальним введенням попередника синтезу H₂S L-цистеїну або

його донора NaHS. На фоні дії DL-пропаргілгліцину (блокатора цистатіонін- γ -ліази) відбувається пригнічення синтезу H_2S як з ендogenous його попередників, так і з екзогенного L-цистеїну, що зумовлює звуження кровоносних судин печінки.

Показано, що попередник синтезу монооксиду азоту L-аргінін викликає розширення мікроциркуляторних та ємнісних кровоносних судин печінки, що призводить до збільшення тканинного кровотоку і об'єму депонованої в ній крові. Блокада NO-синтаз за допомогою L-NAME повністю усуває ефекти L-аргініну, пригнічуючи синтез NO як з нього, так і з ендogenous попередників, що циркулюють у кровоносному руслі. В результаті цього відбувається звуження внутрішньопечінкових судин і, як наслідок, зменшення тканинного кровотоку в органі та його кровонаповнення.

Вперше показано, що тривале (впродовж 20 діб) внутрішньоочеревинне введення щурам з натрій-йодною моделлю портальної гіпертензії L-цистеїну або L-аргініну призводить до нормалізації тиску в судинах печінки і тканинного кровотоку в ній, при цьому спостерігається часткова регенерація тканини залози. Встановлено, що при портальній гіпертензії вміст стабільного метаболіту монооксиду азоту – NO_2 в судинному руслі печінки збільшується, що може бути зумовлено додатковою активацією ендотеліальної та індукцибельної форм NOS. Двадцятиденне введення L-аргініну призводить до повернення концентрації NO_2 до вихідного рівня і за механізмом зворотнього зв'язку пригнічує активність eNOS і синтез NO в судинах печінки. L-цистеїн підвищує вміст цього метаболіту в плазмі крові ворітної вени портальногіпертензивних тварин, активуючи NOS.

Практичне значення одержаних результатів. Отримані в роботі експериментальні результати мають як теоретичне, так і практичне значення, оскільки дають змогу доповнити сучасні уявлення про роль газових трансмітерів сірководню та монооксиду азоту у регуляції кровообігу в печінці. Вивчення дії H_2S і NO на печінкову гемодинаміку є також важливим для з'ясування механізмів виникнення та розвитку багатьох захворювань печінки та біліарної системи, зокрема портальної гіпертензії. Так, при цій патології порушується синтез і, як наслідок, фізіологічна рівновага у крові вазомоторних чинників, у тому числі й газових трансмітерів, внаслідок чого внутрішньопечінкові судини звужуються, тиск крові у портальному руслі зростає, виникають зміни архітекtonіки печінки. L-аргінін та L-цистеїн призводять до нормалізації гемодинаміки печінки та її мікроструктури. Отримані у роботі результати щодо шляхів реалізації дії L-цистеїну і L-аргініну, як попередників синтезу потужних судинорозширювальних факторів сірководню та монооксиду азоту, дають змогу рекомендувати ці амінокислоти до впровадження в клінічну практику для лікування ідіопатичної форми портальної гіпертензії.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто опрацьовано першоджерела літератури, проведено експериментальну роботу, статистичну обробку та аналіз результатів досліджень. Планування досліджень,

обговорення і аналіз отриманих результатів та формулювання висновків здійснено разом з науковим керівником, доктором біологічних наук, професором П.І. Янчуком.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювалися на X Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ в біології» (Львів, 2014 р.), на VII Міжнародній науковій конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (Київ, 2014), Міжнародній науковій конференції «Механізми функціонування фізіологічних систем», приуроченій 70-літтю біологічного факультету та 230-літтю кафедри фізіології Львівського університету (Львів, 2014 р.), на VI Міжнародній конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2014), конференції студентів та молодих вчених «Шевченківська весна» (Київ, 2015), XI Міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ в біології» (Львів, 2015), XIX З'їзді Українського фізіологічного товариства, присвяченому 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Львів, 2015).

Публікації. За результатами дисертаційного дослідження опубліковано 14 наукових праць, з яких 6 статей у вітчизняних наукових фахових виданнях, рекомендованих Департаментом акредитації кадрів України, з них 1 у науково-метричній базі; 9 тез наукових конференцій і форумів.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів досліджень, результатів досліджень, узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел з 290 найменувань. Робота викладена на 164 сторінках, ілюстрована 40 рисунками і містить 11 таблиць.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проведені за умов гострого експерименту на 297 білих лабораторних щурах масою 250 – 350 г обох статей, які утримувались в умовах віварію ННЦ «Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка згідно «Стандартних правил по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних біологічних клінік (віваріїв)» з дотриманням загальних принципів біоетики у відповідності до Хельсінської декларації [Всесвітня медична асамблея, 1964], Міжнародних принципів Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей [Страсбург, 1986], Закону України № 3447 IV «Про захист тварин від жорстокого поводження», № 6 протоколу від 1 вересня 2015 року ННЦ

«Інститут біології» Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

За добу до початку експерименту щурам здійснювали харчову депривацію з вільним доступом до води. У якості наркозу використовували уретан (етилловий ефір карбамінової кислоти) в дозі 1 г/кг маси тіла внутрішньоочеревинно (в/оч).

У щурів реєстрували системний артеріальний тиск (САТ) та тиск у ворітній вені (Твв) електроманометром ЕМТ-31 (Швеція), зміни кровонаповнення печінки (КНП) – реографічним методом у модифікації Янчука та співавт. [1984] за допомогою реографа РГ-4-01, локальний кровотік в печінці (ЛК) – методом кліренсу водню з електрохімічною його генерацією, використовуючи полярограф LP-9 (Чехія). Всі показники записували на реєстраторі Н071.6М. Впродовж дослід у щурів реєстрували внутрішньоректально температуру тіла за допомогою електротермометра ТПЕМ-1 і підтримували її на рівні $37,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ за допомогою електрообігрівача.

Для виконання поставлених задач були використані наступні препарати: донор синтезу H_2S NaHS (Sigma, USA у дозі 7 мг/кг маси тіла в 1 мл фізіологічного розчину) та амінокислоти L-цистеїн (Sigma, USA за умов гострого експерименту у дозі 15–30 мг/кг маси тіла в 1 мл фізіологічного розчину, а в умовах хронічного дослідження – 40 мг/кг) і L-аргінін (Sigma, USA у дозі 2,5–5 мг/кг в гострих дослідженнях, а в хронічних – 20 мг/кг). DL-пропаргілгліцин (Sigma, USA у дозі 11 мг/кг), що є аналогом L-цистеїну та інгібує цистатіонін- γ -ліазу (CSE), а також L-NAME (L- N^{G} -нітро-аргінінметиловий ефір, Sigma, USA у дозі 20 мг/кг) – конкурентний інгібітор NO-синтаз. Норадреналін (у дозі 5 мкг/кг) використовували для контролю реактивності судин. Щурам контрольної групи вводили внутрішньоректально (в/р) воду для ін'єкцій із розрахунку 0,5 мл/100 г маси тіла.

Портальну гіпертензію моделювали за методикою П.І. Янчука [2014], яка полягала у триразовому з інтервалом в три дні внутрішньоректальному введенні щурам 12%-го водного розчину йодистого натрію (NaI) із розрахунку 0,5 мл/100 г. Для корекції порушення функціонування печінки при портальній гіпертензії тваринам впродовж 20 діб вводили L-цистеїн в дозі 40 мг/кг в/оч, або щурам іншої групи, також протягом 20 днів, вводили L-аргінін (20 мг/кг, в/оч).

Після закінчення дослідження еутаназію щурів здійснювали шляхом введення підвищеної дози наркозу.

Для визначення вмісту нітрит-аніону в плазмі крові щурів з портальною гіпертензією використовували реактив Гріса за методом Гріна [Курилина Е.И., 2012]. Величину екстинції визначали на спектрофотометрі СФ-26 при довжині хвилі 543 нм через 5 хв після змішування. Кількість NO_2^- розраховували за калібрувальною кривою, побудованою для стандартних розчинів NaNO_2 . Отримані кількості перераховували на 1 мг загального білка за методом Лоурі.

Для морфологічного дослідження були використані шматочки печінки після фіксації 10% нейтральним формаліном та зневодненні в спиртах висхідної міцності, оброблені за загальноприйнятою гістологічною методикою і залиті у парафін [Потоцький М.К., 2001]. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином і піддавали світлооптичному дослідженню.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою аналітичного пакету «Statistica 8.0». Для оцінки нормальності розподілу використовувався тест Шапіро-Вілка. Для оцінки значущих відмінностей між вибірками з нормальним розподілом даних використовувався критерій Стюдента (з використанням критерія Левена) та модифікований критерій Стюдента, а для оцінки значущих відмінностей між вибірками з ненормальним розподілом даних використовувався критерій Мана-Вітні. Данні в тексті і в таблицях представлені у вигляді Me [25; 75] (Me – медіана; 25 і 75 – 1-й і 3-й квартилі) або $M \pm SD$ (де M – середнє арифметичне, SD – середньоквадратичне відхилення). Відмінності між групами вважались достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати досліджень та їх обговорення

За умов внутрішньопортального (в/п) введення попередника синтезу сірководню L-цистеїну у дозі 15 мг/кг САТ і Твв знижувались на 17,6% ($p < 0,05$) і 24,5% ($p < 0,05$) відповідно, а КНП та ЛК у печінці збільшувались на 28,2% ($p < 0,01$) та 24,4% ($p < 0,01$) відповідно (рис.1).

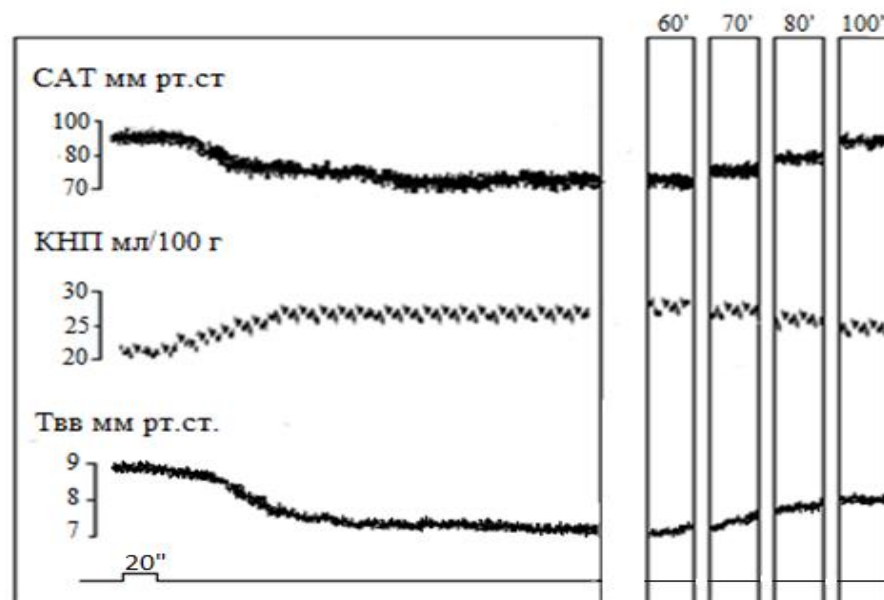


Рис.1. Зміни системного артеріального тиску (САТ), кровонаповнення печінки (КНП) та тиску у ворітній вені (Твв) щурів у відповідь на внутрішньопортальне введення L-цистеїну (15 мг/кг).

Примітка: внизу відмітка введення речовини

Збільшення дози амінокислоти (30 мг/кг) призводило до зниження САТ і Твв на 15,8% ($p < 0,05$) та – 23,8% ($p < 0,01$) відповідно і збільшення КНП та ЛК на 24,4% ($p < 0,01$) і 24% ($p < 0,01$) відповідно до вихідних рівнів цих показників (рис.2).

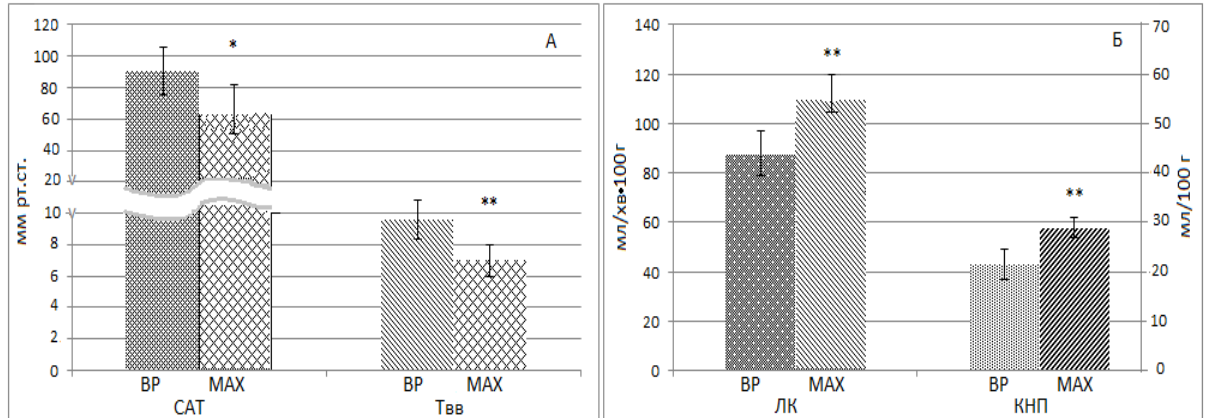


Рис.2. Реакції системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв) – А, локального кровотоку в печінці (ЛК), та її кровонаповнення (КНП) – Б, при внутрішньопортальному введенні L-цистеїну (30 мг/кг); $M \pm SD$, $n=32$.

Примітки: BP – вихідний рівень показника; MAX – максимум реакції;

На рис. Б ліворуч – шкала для ЛК, праворуч – для КНП;

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

Аналогічні зміни показників печінкової гемодинаміки спостерігались і під впливом екзогенного сірководню, для чого ми застосували донор сірководню гідросульфід натрію, який у розчині частково дисоціює з утворенням Na^+ і HS^- , з подальшим утворенням H_2S . При внутрішньопортальному введенні NaHS (7 мг/кг) САТ і Твв знижувались на 20,8% ($p < 0,05$) і 26,2% ($p < 0,01$) відповідно, а КНП і ЛК підвищувались на 30,9% ($p < 0,05$) та 16,4% ($p < 0,01$) відповідно (табл. 1).

Отримані нами результати свідчать про те, що як попередник ендогенного синтезу сірководню L-цистеїн, так і його донор NaHS при внутрішньопортальному введенні викликають розширення кровеносних судин печінки, внаслідок чого тиск крові в них знижується, а тканинний кровотік в органі та його кровонаповнення збільшуються.

Слід зазначити, що ендогенний синтез сірководню у серцево-судинній системі відбувається з амінокислоти L-цистеїну переважно за участю ферменту цистатіонін- γ -ліази. До речі, мРНК CSE виявлено в ендотелії судин та зірчастих клітинах печінки [Fiorucci S. et al, 2005]. Не виключається і безпосередній вплив L-цистеїну на тонус гладеньком'язових клітин ворітних судин печінки, без перетворення на сірководень [Semenykhina O. et al, 2011]. Тому ми вирішили дослідити вплив цієї амінокислоти на печінкову гемодинаміку за умов дії селективного інгібітора цистатіонін- γ -ліази DL-пропаргілліцину.

Таблиця 1.

Зміни системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв), кровонаповнення печінки (КНП) та локального кровотоку (ЛК) в печінці щурів при внутрішньопортальному введенні NaHS 7мг/кг; (M±SD, n=22)

Показники	Вихідний рівень	Максимум реакції	% реакції від вихідного рівня
САТ мм.рт.ст.	102,8± 10,6	81,5 ± 7,8 *	79,2
Твв мм.рт.ст.	8,8 ± 1,3	6,5 ± 2,1 **	75,5
КНП мл/100 г	22,0 ± 2,2	28,8 ± 2,3 *	130,9
ЛК мл/хв·100г	75,8 ± 5,9	88,3 ± 10,6 **	116,4

Примітка: *-p<0,05, **-p<0,01,***-p<0,001 у порівнянні з вихідним рівнем

Внутрішньопортальне введення DL-пропаргілгліцину (11 мг/кг) зумовлювало підвищення САТ на 17,7% (p<0,05) і Твв на 33,3% (p<0,01) та зменшення КНП на 14,3% (p<0,05) і ЛК на 15,3% (p<0,05) в печінці піддослідних щурів відносно вихідного рівня (табл. 2).

Таблиця 2

Реакції системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв), кровонаповнення печінки (КНП) та локального кровотоку в ній (ЛК) на внутрішньопортальне введення DL-пропаргілгліцину 11 мг/кг; (M±SD, n=14)

Показники	Вихідний рівень	Максимум реакції	% реакції від вихідного рівня
САТ мм.рт.ст.	90,9 ± 7,3	107,0 ± 10,4 *	117,7
Твв мм.рт.ст.	7,2 ± 1,7	9,6 ± 1,4 **	133,3
КНП мл/100 г	19,6± 4,2	16,8± 2,1 *	85,7
ЛК мл/хв·100г	102,7±17,7	87,0 ± 11,9 *	84,7

Примітка: *-p<0,05, **-p<0,01 у порівнянні з вихідним рівнем

Така реакція кровоносних судин печінки свідчить про те, що DL-пропаргілгліцин заблокував дію фермента CSE, завдяки чому відбулось пригнічення ендogenous синтезу сірководню з його ендogenous попередників. Внаслідок цього внутрішньопечінкові судини звужились, що і призвело до підвищення в них тиску і зменшення тканинного кровотоку в печінці та об'єму депонованої в ній крові. Введення L-цистеїну (15 мг/кг, в/п) на фоні дії DL-пропаргілгліцину (11 мг/кг, в/п) призводило до підвищення САТ на 13,6%, Твв на 28,9% ($p < 0,05$) і зниження КНП і ЛК на 21,5% та 17,7% відповідно (рис.3). Тобто відбулась блокада ефектів амінокислоти.

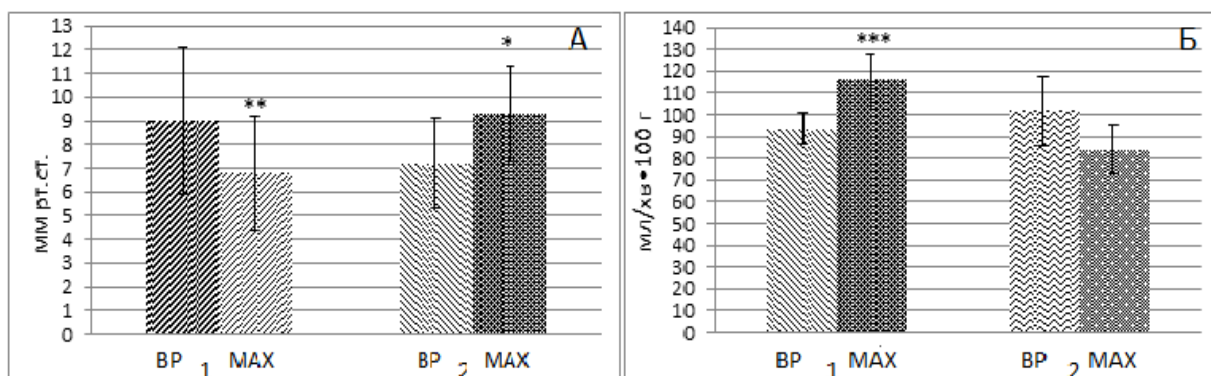


Рис.3. Тиск у ворітній вені (А) та локальний кровотік в печінці (Б) за умов введення L-цистеїну (15 мг/кг) до (1) та на фоні (2) дії DL-пропаргілгліцину (11 мг/ кг); $M \pm SD$, $n=18$.

Примітки: * - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

За результатами групи експериментів, де було використано амінокислоту в дозі 30 мг/кг, спостерігались аналогічні зміни досліджуваних показників: підвищення САТ на 20,4% ($p < 0,05$), Твв на 26,6% ($p < 0,01$) та зменшення КНП і ЛК на 21,5% ($p < 0,05$) і 11,7% порівняно з вихідними значеннями цих показників (рис.4.)

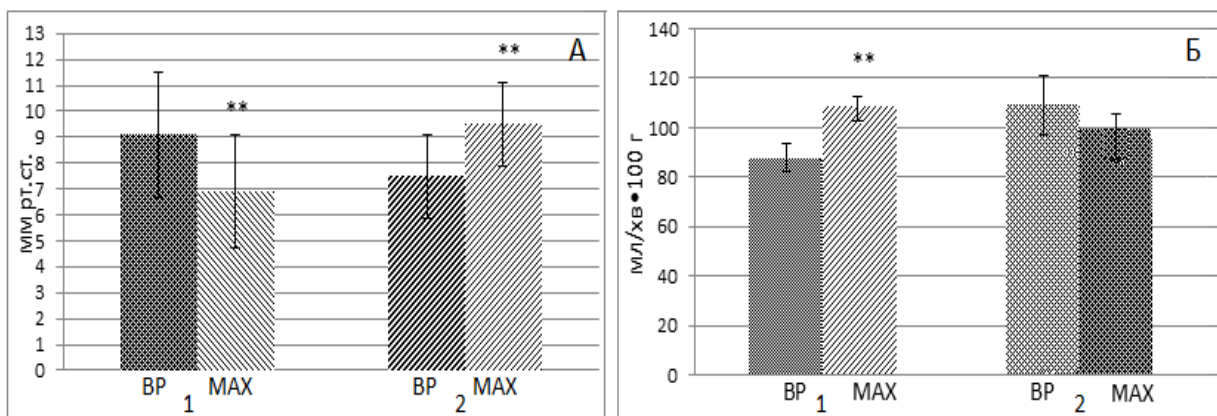


Рис.4. Тиск у ворітній вені (Твв; А) та локальний кровотік в печінці (ЛК; Б) за умов введення L-цистеїну (30 мг/кг) до (1) та на фоні (2) дії DL-пропаргілгліцину (11 мг/ кг); $M \pm SD$, $n=18$.

Примітки: ** - $p < 0,01$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

Усунення реакцій у судинному руслі печінки на L-цистеїн за умов попереднього введення DL-пропаргілгліцину вказує на те, що ці вазодилаторні ефекти ініціюються сірководнем, який синтезується кровоносними судинами як із введеного ззовні екзогенного L-цистеїну, так і з попередників H_2S , що циркулюють у кровоносному руслі.

Таким чином, сірководень відіграє важливу роль у регуляції як печінкового кровообігу, що показано нашими дослідженнями, так і в регуляції гемодинаміки інших судинних регіонів організму, про що свідчать результати ряду інших дослідників [King S. et al, 2013]. Порушення рівноваги синтезу цього газового трансмітера можуть викликати виникнення та розвиток патологічних процесів у серцево-судинній системі, зокрема такого важкого захворювання як портальна гіпертензія [Licks F. et al, 2014]. Завдяки своїм фізіологічним властивостям сірководень може бути застосований для корекції зрушень функціонування та захисту кардіоваскулярної системи від пошкоджень при різних її захворюваннях.

Досліджуючи участь NO у регуляції печінкового кровообігу ми виявили, що внутрішньопортальне введення L-аргініну у дозі 2,5 мг/кг призводить до зниження САТ і Твв на 16,9% ($p < 0,05$) та 27,8% ($p < 0,05$) відповідно та збільшення ЛК і КНП на 31,7% ($p < 0,01$) і 20,2% ($p < 0,01$) відповідно (рис.5).

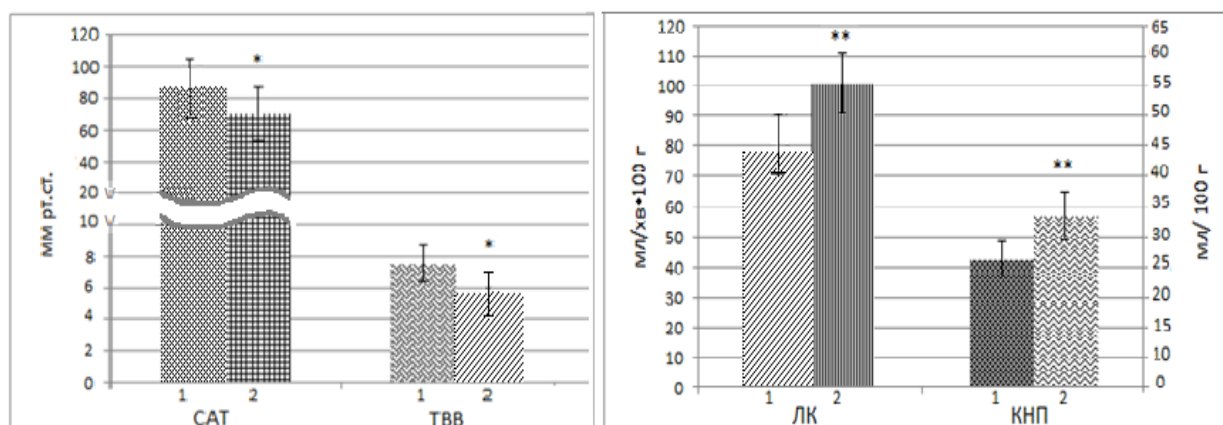


Рис.5. Реакції системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв), локального кровотоку в печінці (ЛК) та її кровонаповнення (КНП) при внутрішньопортальному введенні L-аргініну (2,5 мг/кг); $M \pm SD$, $n=29$.

Примітки: 1 – вихідний рівень показника; 2 – максимум реакції;

На рис. Б ліворуч – шкала для ЛК, праворуч – для КНП;

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

Збільшення дози L-аргініну (5 мг/ кг) спричиняє аналогічні реакції у судинах: САТ і Твв знижувались на 10,5% і 20,5% відповідно, а ЛК і КНП підвищувались на 33% ($p < 0,05$) та 41,8% ($p < 0,01$) відповідно (табл.3).

Отже, попередник синтезу монооксиду азоту L-аргінін у дозах, близьких до його фізіологічної концентрації у крові, при внутрішньопортальному введенні викликає зниження системного

артеріального тиску, тиску у ворітній вені та збільшення локального кровотоку в печінці і її кровонаповнення, що свідчить про судинорозширювальний ефект цієї амінокислоти в печінці, зокрема на судини мікроциркуляторного русла та ємнісні кровоносні судини.

Як відомо, монооксид азоту в організмі людини і тварин утворюється з L-аргініну, а його каталіз здійснюється за допомогою різних ізоформ NO-синтаз [Lundberg J., 2010; Diesen D., 2011]. Синтез NO є регульованим процесом і може гальмуватися різними аналогами L-аргініну, які є конкурентними інгібіторами NOS. N-нітро-L-аргінінметиловий ефір (L-NAME) є неселективним блокатором усіх ізоформ NO-синтаз [Bai Y. et al, 2009] і тому був використаний для перевірки залучення монооксиду азоту до реалізації досліджуваних ефектів амінокислоти.

Таблиця 3

Системний артеріальний тиск (САТ), тиск у ворітній вені (Твв), локальний кровотік в печінці (ЛК) та її кровонаповнення (КНП) при внутрішньопортальному введенні L-аргініну в дозі 5 мг/кг (M±SD; n=25)

Показники	Доза L-аргініну	Вихідний рівень	Максимум реакції	Відсоток реакції
САТ мм рт.ст.	5 мг/кг	91,1 ± 12,4	81,6 ± 13,0	89,5
Твв мм рт.ст.	5 мг/кг	8,3 ± 1,4	6,6 ± 1,6	79,5
ЛК, мл/хв • 100г	5 мг/кг	96,6 ± 16,9	138,2 ± 27,3**	141,8
КНП, мл/100 г	5 мг/кг	21,8 ± 1,2	29,0 ± 2,2*	133

Примітка: *- p<0,05; ** - p<0,01

У відповідь на болюсне внутрішньопортальне введення L-NAME (20 мг/кг) спостерігалось підвищення САТ і Твв на 33,8% (p<0,01) та 29,6% (p<0,01) відповідно, а також зниження ЛК і КНП на 17% (p<0,05) і 20% (p<0,001) відповідно. Ці результати свідчать про те, що L-NAME заблокував активність NO-синтаз, завдяки чому відбулось пригнічення ендогенного синтезу монооксиду азоту. Внаслідок цього, внутрішньопечінкові судини звужились і, як результат, тиск крові в них підвищився, а тканинний кровотік та об'єм депонованої в печінці крові зменшились.

Подальші наші дослідження полягали у з'ясуванні судинорухових ефектів L-аргініну в печінці на фоні дії блокатора NO-синтаз L-NAME. Виявилось, що введення L-аргініну в обох дозах на фоні дії L-NAME призводить не тільки до усунення судинорозширювальних ефектів амінокислоти в печінці, але й до протилежних змін досліджуваних показників. Так, при введенні амінокислоти в дозі 2,5 мг/кг спостерігалось підвищення САТ на 14,8%, Твв на 35,8% (p<0,01), а ЛК і КНП зменшувались на 6,9% і 18,3% (p<0,05) відповідно до вихідних рівнів.

Зі збільшенням дози L-аргініну до 5 мг/кг на фоні блокади NOS САТ та Твв, як і у попередньому випадку, підвищувались на 37,6% (p<0,01) та 20,8%

($p < 0,05$) відповідно, а ЛК і КНП зменшувались на 13,3% та 20,3% ($p < 0,05$) відносно вихідного рівня (табл.4).

Отримані нами експериментальні дані в певній мірі узгоджуються з результатами досліджень інших авторів, які також вивчали участь NO у регуляції печінкової гемодинаміки [Yang G. et al, 2001; Shimamura K. et al, 2003; Kimura S. et al, 2007]. Але вони досліджували зміни тонузу магістральних печінкових судин, таких як печінкова артерія та ворітна вена, котрі є судинами опору. Іншими авторами було встановлено, що L-аргінін посилює проходження перфузату через печінку, викликаючи розширення її судин [Diesen D., 2011].

Ми поряд з тиском у ворітній вені, який характеризує опір порталних судин, реєстрували й реакції кровонаповнення печінки, що свідчать про зміни тонузу емнісних судин органа та реєстрували кровотік безпосередньо в паренхімі печінки щурів. Наші експерименти підтверджуючи той факт, що NO знижує тиск крові у ворітній вені, свідчать і про те, що цей газовий трансмітер зменшує тонуз емнісних судин залози, збільшуючи тим самим депонування нею крові, та розширює судини мікроциркуляторного русла, завдяки чому тканинний кровотік в печінці зростає.

Таблиця 4

Зміни системного артеріального тиску (САТ), тиску у ворітній вені (Твв), локального кровотоку в печінці (ЛК) та її кровонаповнення (КНП) при внутрішньопортальному введенні L-аргініну в дозі 5 мг/кг на фоні дії L-NAME в дозі 20 мг/кг ($M \pm SD$; N=35)

Показники	Доза L-аргініну	Вихідний рівень	Максимум реакції	Відсоток реакції
САТ мм рт.ст.	5 мг/кг	71,5 ± 9,4	98,4 ± 14,0**	137,6
Твв мм рт.ст.	5 мг/кг	6,7 ± 2,4	8,1 ± 2,7*	120,8
ЛК, мл/хв • 100г	5 мг/кг	94,7 ± 22,4	89,3 ± 12,9	86,7
КНП, мл/100 г	5 мг/кг	22,2 ± 1,3	17,7 ± 2,0*	79,7

Примітка: * - $p < 0,05$, ** - $p < 0,01$

Наступним етапом нашої роботи було дослідити участь сірководню та монооксиду азоту у регуляції печінкового кровообігу при порталній гіпертензії у щурів за умов введення L-аргініну або L-цистеїну.

Портальна гіпертензія (ПГ) є одним із тяжких захворювань печінки, що супроводжується не тільки порушенням роботи залози, але і зумовлює зміни у метаболізмі місцево діючих речовин (NO, ендотеліну-1), котрі синтезуються клітинами синусоїдів печінки [Albrades J. et al, 2003; Hernandez G. et al, 2006; Yasuko I., 2012].

Як відомо, H_2S також має здатність діяти місцево, та є потужним вазодилататором. Тому, щоб перевірити здатність H_2S впливати на кровообіг в печінці у тварин з ПГ, ми використовували попередник його синтезу L-цистеїн (40 мг/кг), який вводили в/оч протягом 20 днів.

Виявилось, що у портальногіпертензивних тварин L-цистеїн знижує САТ на 20,3% ($p < 0,01$), Твв на 35,9% ($p < 0,001$) та підвищує ЛК на 54,2% ($p < 0,001$), що наблизило значення цих показників до таких, як у щурів групи контролю (рис.6).

В іншій групі тварин, яким в/р вводили воду та в/оч L-цистеїн (40 мг/кг), САТ невірогідно зріс на 3,1%, Твв знизився на 14,2% ($p < 0,05$), а ЛК в печінці збільшився на 12,4% ($p < 0,05$). Ці дані свідчать про те, що L-цистеїн чинить односпрямовану дію у вибірках портальногіпертензивних та нормотензивних тварин. При цьому спостерігалось розширення кровоносних судин в залозі, в результаті чого тканинний кровотік в ній зростав, а тиск крові в артеріальних і ворітних судинах знижувався.

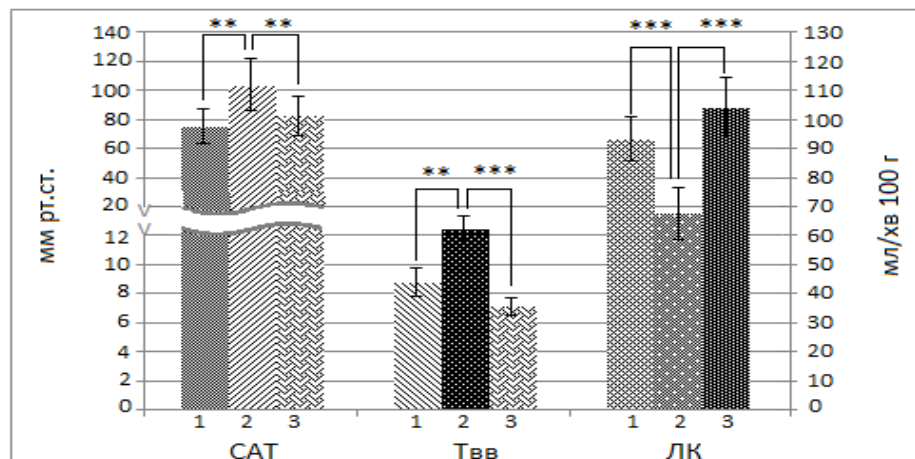


Рис.6. Системний артеріальний тиск (САТ), тиск у ворітній вені (Твв) та локальний кровотік (ЛК) у печінці щурів контрольної групи (1) та у тварин з натрій-йодною моделлю портальної гіпертензії до (2) і після 20-ти денного внутрішньоочеревинного введення L-цистеїну (3). ($M \pm SD$; $n=10$).

Примітки: ліворуч – шкала (у мм.рт.ст.) для тиску крові в артеріальних і ворітних судинах; праворуч – шкала (у мл/хв•100г) для локального кровотоку в печінці; ** - $p < 0,01$; *** - $p < 0,001$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня показника

Після тривалого протягом 20-ти діб в/оч застосування L-аргініну в контрольній групі спостерігалось зменшення САТ на 22,6% ($p < 0,05$) і Твв – на 2,6%, а також збільшення швидкості ЛК в печінці щурів на 10,3% (рис.7.). Тоді як у портальногіпертензивних щурів показники гемодинаміки істотно відрізнялись від контролю. Спостерігалось зниження САТ на 3%, Твв на 38% ($p < 0,05$) і підвищення ЛК на 44,5% ($p < 0,01$). Тобто L-аргінін викликає у ПГ-тварин суттєве зниження опору внутрішньопечінкових судин завдяки їх розширенню, що призводить до нормалізації тиску крові у ворітних судинах та тканинного кровотоку в печінці. Більш інтенсивне розширення кровоносних судин печінки на введення L-цистеїну і L-аргініну у ПГ-тварин порівняно з контрольними можна пояснити значно вищим вихідним рівнем тону судин у щурів з ПГ. Отримані результати свідчать про те, що введення

цих амінокислот сприяє зменшенню тиску у системному артеріальному та венозному руслах, а також призводить до збільшення швидкості тканинного кровотоку в залозі щурів контрольної та портальногіпертензивної груп.

Досліджували реактивність судин ворітної системи на введення норадреналіну (НА; 5 мкг/кг, в/п). У контрольних щурів Твв зростав при цьому на 49,5% ($p < 0,001$) порівняно з вихідним рівнем, а у ПГ-тварин – на 32% ($p < 0,05$). Це свідчить про зниження чутливості адренорецепторів ворітних судин та зменшення резервних можливостей їх до звуження при ПГ. Після 20-ти добового введення L-цистеїну або L-аргініну, коли Твв у ПГ-тварин майже нормалізувався, реакції ворітних судин на НА також досягли таких як у контрольних тварин – Твв зростав на 48,9% і 47,6% ($p < 0,001$) відповідно.

Після 20-ти денного застосування L-цистеїну або L-аргініну був проведений гістологічний аналіз печінки щурів з ПГ. Виявилось, що при цьому відбувається покращення морфоструктури печінки та прискорення регенераційних процесів в ній.

У подальшому ми вирішили перевірити, чи існує залежність синтезу монооксиду азоту у портальногіпертензивних щурів за умов 20-ти денного введення L-цистеїну та L-аргініну. Оцінку вмісту в крові NO робили виходячи з того, що молекула NO нестабільна (середній період існування в організмі людини становить < 5 с), тому основна маса NO, залученого у велике коло кровообігу, припадає на продукти його стабільних метаболітів (нітритів та нітратів), які утворюють депо вільного NO в організмі [Singel D., 2005].

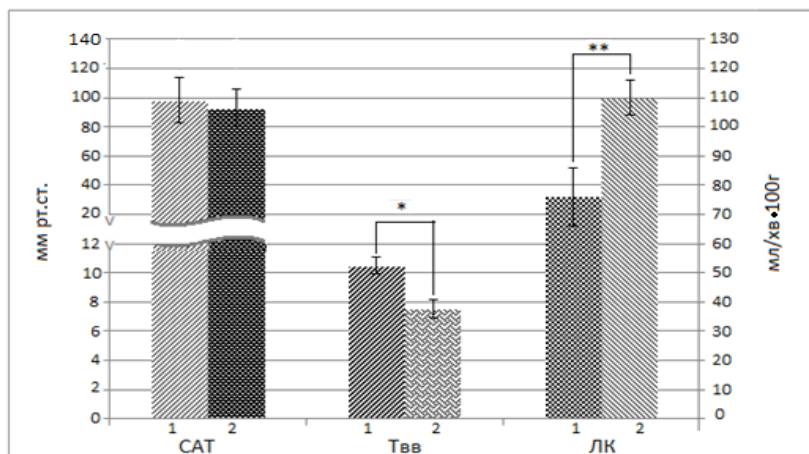


Рис.7. Системний артеріальний тиск (САТ), тиск у ворітній вені (Твв) та локальний кровотік у печінці (ЛК) щурів при 20-ти денному внутрішньоочеревинному введенні L-аргініну (20 мг/кг); $M \pm SD$, $n=22$.

Примітки: 1 – портальногіпертензивні тварини; 2 – L-аргінін; ліворуч – шкала (у мм рт.ст.) для тиску крові в артеріальних і ворітних судинах; праворуч – шкала (у мл/хв•100г) для локального кровотоку в печінці;

* - $p < 0,05$; ** - $p < 0,01$ – вірогідність змін відносно вихідного рівня

Встановлено, що співвідношення NO_2 / NO_3 в плазмі крові становить

1:10, тоді як в культуральних середовищах їх рівень знижується до 1:4 [Топчий И.И. та ін., 2005]. У свавців кількість NO_3 коливається від 0 до 4,2 ммоль/л, а NO_2 - $19,7 \pm 4,4$ Ммоль/л, що свідчить про перевагу в концентрації нітратів над нітритами [Viinikka L., 1996]. Тому, ми проводили визначення вмісту стабільного метаболіту NO_2 у плазмі крові щурів з ПГ, ПГ+ L-цистеїн та ПГ+ L-аргінін. Виявилось, що при NaJ-моделі ПГ відбувається збільшення рівня NO_2 у плазмі крові (32,4 Ммоль/мг білка), тоді як у контрольній групі рівень NO_2 становив 5,2 Ммоль/мг (рис.8).

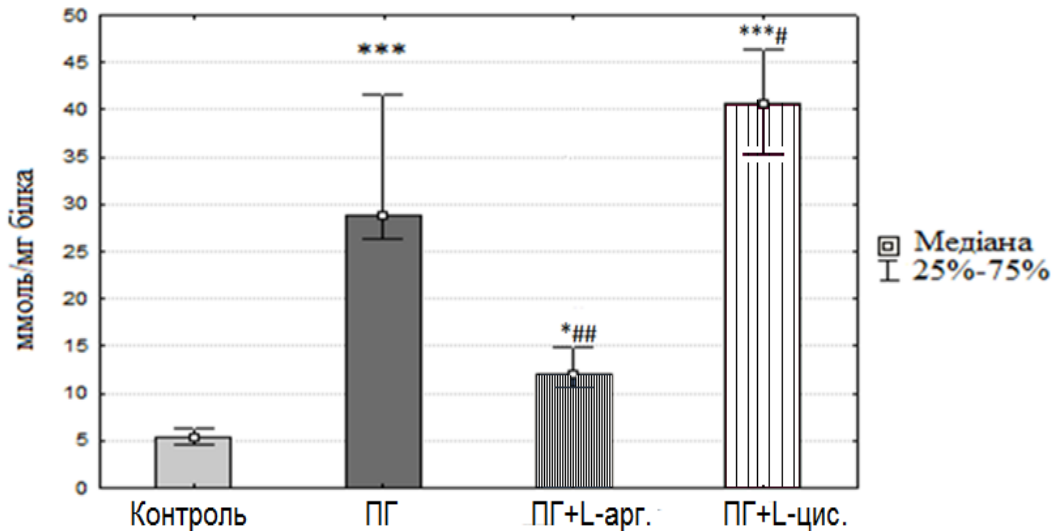


Рис. 8. Вміст нітрит-аніону в плазмі крові щурів з портальною гіпертензією.

Примітки: ПГ – при портальній гіпертензії; ПГ+L-арг. – при портальній гіпертензії після 20-денного в/оч ведення L-аргініну; ПГ+L-цис. – при портальній гіпертензії після 20-денного в/оч ведення L-цистеїну.*- $p < 0,05$, *** - $p < 0,001$ – порівняно з контролем; # - $p < 0,05$; ## - $p < 0,01$ – порівняно з ПГ; Me [25%;75%]; $n = 27$

Таке суттєве підвищення NO_2 , ймовірно, може бути зумовлено, адаптивною реакцією судин, спрямованою на подолання змін портального кровотоку [Serna E. et al, 2013]. Тому додаткова активація eNOS, сприяючи збільшенню утворення монооксиду азоту, намагається подолати внутрішньопечінковий опір та справити розширювальний ефект на внутрішньопечінкові судини, а разом з тим і нормалізувати мікроциркуляцію в її кровоносному руслі. Крім того, не варто виключати і те, що при розвитку портальної гіпертензії пошкодження виникають і на рівні клітин. Як відомо, різні стресові стани, в тому числі і травмування клітин, можуть впливати на кальцій-залежні каналні структури, викликаючи експресію індукцибельної форми NOS, а разом з тим і синтез NO. [Зефіров А.Л. и др, 2001]. Однак відомо, що високі концентрації монооксиду азоту в клітинах печінки та її судинному руслі здатні пригнічувати активність eNOS і синтез NO в судинах печінки. Крім того, при цирозному переродженні клітин печінки синтез судинозвужувальних факторів зростає (зокрема ендотеліну-1), а монооксид

азоту, в свою чергу, протидіє цьому констрикторному впливу. Введення L-цистеїну портальногіпертензивним тваринам не призводило до зниження рівня NO_2 в плазмі, а навіть вірогідно його підвищувало. Виходячи з отриманих результатів стає зрозуміло, що L-цистеїн впливає на активність NOS та сприяє підвищенню рівня NO_2 в плазмі крові щурів, дія якого супроводжується не лише місцевими ефектами в умовах внутрішньопортального введення. Тоді як L-аргінін у портальногіпертензивних тварин спричиняв зниження концентрації NO_2 разом з пригніченням екзогенного синтезу монооксиду азоту eNOS та iNOS (рис.8).

Отримані у дисертаційній роботі результати свідчать про те, що сірководень та монооксид азоту здатні регулювати не тільки кровообіг в печінці щурів як в нормі, так і за умов портальної гіпертензії, але й відновлювати морфологічну структуру залози та регулювати рівень NO_2 в плазмі крові щурів.

ВИСНОВКИ

1. Сірководень бере активну участь у регуляції кровообігу в печінці, свідченням чому є розширення внутрішньопечінкових судин, зумовлене внутрішньопортальним введенням попередника його синтезу L-цистеїну або його донора NaHS.

2. Блокада цистатіонін- γ -ліази за допомогою DL-пропаргілгліцину зумовлює пригнічення синтезу H_2S як з ендогенних його попередників, так і з екзогенного L-цистеїну, викликаючи звуження кровоносних судин печінки, внаслідок чого тиск крові в них зростає, а тканинний кровотік і об'єм депонованої в органі крові зменшуються.

3. Монооксид азоту бере дієву участь у регуляції депонування крові печінкою та мікроциркуляції в ній крові, про що свідчить збільшення кровонаповнення залози та інтенсивності тканинного кровотоку в ній при введенні попередника синтезу NO L-аргініну.

4. Блокада NO-синтаз за допомогою L-NAME повністю усуває ефекти L-аргініну, в результаті чого відбувається звуження внутрішньопечінкових судин і, як наслідок, зменшення тканинного кровотоку в органі та його кровонаповнення.

5. Тривале (впродовж 20 діб) внутрішньоочеревинне введення шурам з натрій-йодною моделлю портальної гіпертензії L-цистеїну або L-аргініну призводить до нормалізації тиску в судинах печінки і тканинного кровотоку в ній та відновлення реактивності її кровоносних судин. При цьому спостерігається часткова регенерація тканини залози.

6. В умовах портальної гіпертензії в плазмі крові ворітної вени зростає концентрація NO_2 . Двадцятиденне введення L-аргініну призводить до зниження концентрації NO_2 , тоді як L-цистеїн підвищує вміст метаболіту монооксиду азоту в крові ворітної вени.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІ

1. Слободяник Л.О. Участь монооксиду азоту в регуляції депонування крові печінкою / Л.О. Слободяник, Є.М. Решетнік, П.І. Янчук // Вісник Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Серія: «Проблеми регуляції фізіологічних функцій». – 2014. – Т.1, № 17. – 33-36. *(Здобувач – пошук джерел літератури по обраній темі дослідження, проведення експериментальної роботи із вимірювання системного артеріального тиску, тиску у ворітній вені та кровонаповнення печінки, статистична обробка результатів та їх аналіз).*
2. Слободяник Л.О. Вплив попередника синтезу сірководню L-цистеїну на кровообіг у печінці щурів / Л.О. Слободяник, П.І. Янчук // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія: «Біологія». – 2014. – Вип.36. – С. 86-88. *(Здобувач – у гострих експериментах проведено дослідження впливу сірководню на показники кровообігу в печінці, пошук літературних джерел по темі роботи, аналіз та обробка отриманих результатів, підготовка статті до друку).*
3. Слободяник Л.О. Участь сірководню у регуляції тканинного кровотоку в печінці щурів / Л.О. Слободяник, П.І. Янчук // Вісник Черкаського університету. Серія: «Біологічні науки». – 2014. – №36 (329). – С.103-106. *(Здобувач – у гострих дослідах вимірювання артеріального та ворітного тисків, а також тканинного кровотоку, обробка та аналіз результатів досліджень, оформлення статті до друку).*
4. Слободяник Л.О. Вплив сірководню на кровообіг у печінці щурів при портальній гіпертензії / Л.О. Слободяник, П.І. Янчук, Є.М. Решетнік // Вісник Східноєвропейського національного університету ім. Лесі Українки. – 2015. – Т.2, № 302. – С. 211-216. *(Здобувач – пошук літератури за обраною темою, формування NaI-моделі портальної гіпертензії у щурів, вимірювання в умовах гострого дослідження показників кровообігу в печінці, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку).*
5. Янчук П.І. Вплив попередника синтезу монооксиду азоту L-аргініну на кровеносне русло печінки / П.І. Янчук, Л.О. Слободяник // Вісник проблем біології і медицини. – 2015. – Вип.3, Т.1, № 122. – С. 254-257. *(Здобувач – проведення експериментальних досліджень щодо впливу монооксиду азоту на кровообіг в печінці, робота з літературою, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку).*
6. Янчук П.І. Роль сірководню у регуляції кровообігу в печінці / П.І. Янчук, Л.О. Слободяник // Фізіологічний журнал. – 2015. – Т. 61, №3. – С. 28-34. *(Здобувач – пошук джерел літератури за темою роботи, проведення гострих експериментів стосовно з'ясування впливу сірководню на кровеносну систему печінки, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, підготовка статті до друку).*

Тези наукових доповідей:

7. Янчук П.І. Участие L-аргинина в регуляции кровообращения и тканевого дыхания печени / П.І. Янчук, Л.О. Слободяник, О.В. Бондзик // Материалы 15 славяно-балтийского научного форума. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. – 2013.– № 2. – С.М37.
8. Янчук П.І. Зміни печінкового кровообігу, зумовлені L- аргініном / П.І. Янчук, Н.С. Нікітіна, Л.О. Слободяник // Тези X міжнародної наукової конференції «Молодь і поступ в біології» (11 квітня 2014). – Львів, 2014. – С.256.
9. Янчук П.І.Участь монооксиду азоту в регуляції печінкової гемодинаміки / П.І. Янчук, Л.О. Слободяник, Д.В. Лапчук // Тези VII міжнародної наукової конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (7-9 жовтня 2014). – Київ, 2014. – С.179.
10. Слободяник Л.О. Зміни печінкового кровообігу щурів при дії L-цистеїну / Слободяник Л.О., Янчук П.І. // Тези VII міжнародної наукової конференції «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і патології» (7-9 жовтня 2014). – Київ, 2014. – С.141.
11. Слободяник Л.О. L-аргінін збільшує депонування крові печінкою / Л.О. Слободяник, Д.В. Лапчук, Янчук П.І. // Матеріали міжнародної наукової конференції «Механізми функціонування фізіологічних систем», приуроченої до 70-ліття біологічного факультету і 230-ліття кафедри фізіології у Львівському університеті (15-17 жовтня 2014). – Львів, 2014. – С.78-79.
12. Янчук П.І. Участь монооксиду азоту у регуляції кровообігу і тканинного дихання печінки / П.І. Янчук, Л.О. Слободяник, О.В. Бондзик // Матеріали XIX-го з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченого 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (26-29 травня 2014). – Львів, 2014. – С.101.
13. Слободяник Л.О. Участь сірководню у регуляції печінкового кровообігу щурів / Л.О. Слободяник, П.І. Янчук // Тези VI міжнародної конференції молодих науковців «Біологія: від молекули до біосфери» (18-20 листопада 2014). – Харків, 2014. – С.41.
14. Слободяник Л.О. Зміни кровообігу в печінці щурів, зумовлені сірководнем. / Л.О. Слободяник, П.І. Янчук // Тези XI міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ в біології» (20-24 квітня 2015). – Львів, 2015. – С. 500-501.

АНОТАЦІЯ

Слободяник Л.О. Роль сірководню та монооксиду азоту у регуляції кровообігу в печінці. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук зі спеціальності 03.00.13. – фізіологія людини і тварин. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка МОН України, Київ, 2015.

Дисертація присвячена з'ясуванню ролі сірководню та монооксиду азоту у регуляції кровообігу в печінці в нормі та за умов портальної гіпертензії.

Проведені експерименти дозволили встановити, що сірководень та монооксид азоту беруть активну участь у регуляції кровообігу в печінці, свідченням чому є розширення внутрішньопечінкових судин, зумовлене внутрішньопортальним введенням попередника синтезу H_2S L-цистеїну або його донора $NaHS$ та попередника синтезу NO L-аргініну. На фоні дії DL-пропаргілгліцину (блокатора цистатіонін- γ -ліази), відбувається пригнічення синтезу H_2S як з ендogenous його попередників, так і з екзогенного L-цистеїну, викликаючи звуження кровоносних судин печінки. Блокада NO -синтаз за допомогою L-NAME повністю усуває ефекти L-аргініну, в результаті чого відбувається звуження внутрішньопечінкових судин і, як наслідок, зменшення тканинного кровотоку в органі та його кровонаповнення.

Показано, що тривале (впродовж 20 діб) внутрішньоочеревинне введення щурам з натрій-йодною моделлю портальної гіпертензії L-цистеїну або L-аргініну призводить до нормалізації тиску в судинах печінки і тканинного кровотоку в ній, при цьому спостерігається часткова регенерація тканини залози. Встановлено, що в умовах портальної гіпертензії вміст ендogenous монооксиду азоту в судинному руслі печінки збільшується, а двадцятиденне введення L-аргініну призводить до повернення концентрації стабільного метаболіту монооксиду азоту – NO_2 до вихідного рівня, тоді як L-цистеїн підвищує вміст цього метаболіту в плазмі крові ворітної вени.

Ключові слова: печінка, сірководень, L-цистеїн, монооксид азоту, L-аргінін, портальний тиск, тканинний кровотік, кровонаповнення печінки, портальна гіпертензія.

АННОТАЦІЯ

Слободяник Л.А. Роль сероводорода и монооксида азота в регуляции кровообращения в печени. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.13. - физиология человека и животных. - Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко МОН Украины, Киев, 2015.

Диссертация посвящена выяснению роли сероводорода и монооксида азота в регуляции кровообращения в печени в норме и при портальной гипертензии.

Проведенные эксперименты позволили установить, что сероводород и монооксид азота принимают активное участие в регуляции кровообращения в печени, свидетельством чему является расширение внутрипеченочных сосудов, обусловленное внутриворотальным введением предшественника синтеза H_2S L-цистеина или его донора $NaHS$ и предшественника синтеза NO

L-аргинина. На фоне действия DL-пропаргилглицина (блокатора цистатионин- γ -лиазы), происходит угнетение синтеза H_2S как из эндогенных его предшественников, так и из экзогенного L-цистеина, вызывая сужение кровеносных сосудов печени. Блокада NO-синтазы с помощью L-NAME полностью устраняет эффекты L-аргинина, в результате чего происходит сужение внутрипеченочных сосудов и, как следствие, уменьшение тканевого кровотока в органе и его кровенаполнения.

Показано, что длительное (в течение 20 суток) внутрибрюшинное введение крысам с натрий-йодной моделью портальной гипертензии L-цистеина или L-аргинина приводит к нормализации давления в сосудах печени и тканевого кровотока в ней, при этом наблюдается частичная регенерация ткани железы. Установлено, что в условиях портальной гипертензии содержание эндогенного монооксида азота в сосудистом русле печени увеличивается, а двадцатидневное введение L-аргинина приводит к возвращению концентрации стабильного метаболита монооксида азота - NO_2 к исходному уровню, тогда как L-цистеин повышает содержание этого метаболита в плазме крови воротной вены.

Ключевые слова: печень, сероводород, L-цистеин, монооксид азота, L-аргинин, портальное давление, тканевый кровоток, кровенаполнение печени, портальная гипертензия.

ANNOTATION

Slobodianyk L.O. Role of hydrogen sulfide and nitric oxide in regulation of liver blood flow. - Manuscript.

Dissertation for the scientific degree of Candidate of biological sciences in specialty 03.00.13 – Human and animal physiology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2015.

The thesis deals with the results of investigations about role of hydrogen sulfide and nitric oxide in regulation of liver blood flow in normal conditions and in conditions of portal hypertension.

The experimental results indicate that hydrogen sulfide (H_2S) and nitrogen oxide (NO) are actively involved in the regulation of liver blood flow. This is evidenced by the vasodilatation of intrahepatic vessels caused by the intraportal injection of L-cysteine (precursor of synthesis of H_2S) or NaHS (donor of H_2S) and L-arginine (precursor of synthesis of NO). In response to the intraportal introduction of DL-Propargylglycine (cystathionine γ -lyase inhibitor, CSE) observed increased blood pressure in portal vein and reduce blood flow in the liver tissue and its blood supply. This reaction of liver blood vessels shows that the DL-Propargylglycine blocked the action of enzyme CSE, thereby suppressed endogenous synthesis of hydrogen sulphide from its precursors that are in the blood. Consequently intrahepatic blood vessels constricted, which led to an increase of their pressure, reduce blood flow in the liver tissue and increased volume of deposited blood in it. Inhibitor of NO-synthases (L-NG-Nitroarginine

methyl ester, L-NAME) was used for checking the involvement of NO in observed circulatory response. L-NAME administration led to an increase in the systemic blood pressure and the pressure in the portal vein, and reduced local blood flow in the liver and its blood supply. The results suggest that L-NAME blocked the activity of NO-synthases, thereby inhibiting the synthesis of NO from its endogenous precursors. As a result it occurs constriction of intrahepatic vessels and, consequently, reduce tissue blood flow in the liver and its blood supply.

It is shown that creating models of portal hypertension (the essence of which was in thrice at intervals of three days rectally introduction of NaJ), led to degeneration and necrosis of small sections of the liver. Thus there is intense proliferation of Kupffer cells, in central vein locations appear collagen fibers with blood capillary. Venules and arteriolar lumens are narrowing. In group of animals with portal hypertension were observed decrease of systemic arterial and portal pressure and increase of blood flow in the liver tissue after 20-day administration of amino acids L-cysteine or L-arginine, while the administration of norepinephrine in these groups has caused an increase of systemic arterial and portal pressure and decreased blood flow in the gland. These results indicate that reactive capacity of vessel is remains and endothelium is not damaged after modeling portal hypertension and 20-day injections of amino acids. Pressure in the hepatic vessels was not significantly reduced after 20-day injections of amino acids in the control group of rats. As for the morphological state of the liver, was observed improvement of micro and macrostructure, but it wasn't full recovery of liver tissue.

Moreover it was established that in condition of portal hypertension content of endogenous nitrogen oxide in the liver bloodstream increases, while the 20-day administration of L-arginine leads to the return of concentration of NO_2 (the stable metabolite of nitrogen oxide) to baseline, whereas L-cysteine increases the content of this metabolite in portal vein blood plasma. This may be due to the fact that high concentrations of NO in the liver cells and its bloodstream can inhibit the activity of eNOS (and as the result the NO synthesis) in the liver vessel, while L-cysteine influences on the activity of NOS and leads to rise the concentration NO_2 in the rat blood plasma, the effect of which is accompanied not only local effects in conditions of intraportal injection.

Obtained in this thesis results indicate that hydrogen sulfide and nitrogen oxide not only able to regulate blood flow in the liver of rats in normal conditions and in the conditions of portal hypertension, but also can recover morphological structure of this glands and regulate NO_2 level in rat blood plasma.

Key words: liver, hydrogen sulfide, L-cysteine, nitric oxide, L-arginine, portal pressure, liver blood flow, blood supply of the liver, portal hypertension.