

В. А. Дацко, О. М. Олещук, Г. Я. Лой, М. П. Кланца,
Т. В. Дацко, М. І. Луканюк, В. В. Черняшова,
К. А. Посохова, І. П. Мосейчук, А. З. Ничик

Дослідження NO-залежного механізму дії L-орнітину L-аспартату щодо синдрому цитолізу та холестазу

Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського

Ключові слова: L-орнітин L-аспартат,
цитоліз, холестаза, оксид азоту

L-орнітин L-аспартат (LOLA) є сумішшю двох ендогенних амінокислот, L-орнітину і L-аспартату, та має виражену здатність знижувати рівень аміаку в крові, що робить його потенційним препаратом для лікування печінкової енцефалопатії (ПЕ). Гепатопротективні ефекти LOLA полягають у стимуляції синтезу сечовини, збільшенні вироблення глутаміну в м'язах і регулюванні зв'язку між амінокислотами з розгалуженим ланцюгом [1].

LOLA забезпечує ключові субстрати для метаболічних шляхів, які беруть участь у детоксикації аміаку. Орнітин є субстратом для циклу Кребса в перипортальних гепатоцитах, а також оптимізує основний шлях детоксикації аміаку – синтез сечовини в орнітиновому циклі. Аспартат бере участь у реакції переамінування з глутаміном, у результаті чого підвищується його концентрація та перетворення в аспарагін. Аспарагін і глутамін є важливими амінокислотами, що беруть участь у синтезі білка. Ці реакції перебігають як у перивенозних гепатоцитах, так і в м'язових тканинах, що відіграє важливу роль при хронічних захворюваннях печінки [2].

Дослідження останніх років свідчать про прямий захисний вплив

LOLA на печінку. Встановлено, що у пацієнтів з жировою дистрофією печінки препарат запобігає підвищенню рівнів печінкових ферментів у крові [3]. До того ж LOLA стабілізує баланс пероксидантів/антиоксидантів у клітинах печінки, постачаючи амінокислоти L-орнітин і L-аспартат як субстрати для виробництва глутамату [4], що служить прекурсором глутатіону (GSH), який відіграє роль потужного антиоксиданта та контролює окисне пошкодження [5].

Зрештою, накопичення L-глутамату та L-аргініну під впливом LOLA призводить до підвищення активності синтази оксиду азоту (NOS) з подальшим посиленням мікроперфузії печінки [6]. Цей механізм був підтверджений у пацієнтів з цирозом [7] та на експериментальній моделі хронічної печінкової недостатності [8]. Однак залежний від оксиду азоту (NO) механізм дії LOLA за гострого токсичного ураження печінки недостатньо вивчений.

Численні клінічні дослідження доводять, що в пацієнтів з цирозом LOLA сприяє зниженню системних рівнів аміаку [9, 10], що дозволяє розглядати препарат як потенційний засіб для лікування печінкової енцефалопатії [1, 15]. Проведені нами дослідження свідчать про виражену гепатопротективну дію LOLA при гострому ураженні печінки [11], однак молекулярні мішені, що залу-

чені до реалізації фармакологічних ефектів препарату, залишаються недостатньо з'ясованими.

Мета дослідження – з'ясувати залежність між синтезом NO та реалізацією гепатопротективних ефектів LOLA при синдромах цитолізу та холестази, індукованих токсичним ураженням печінки тетрахлорметаном (CCl₄).

Матеріали та методи. Дослідження проведено на 24 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях, які утримувалися на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського. Умови утримання тварин відповідали правилам, які рекомендовані Європейською конвенцією з захисту хребетних тварин, що використовуються для наукових цілей (м. Страсбург, 1986 р.). Усі експерименти проведені відповідно до Директиви Європейського Союзу 2010/10/63 EU щодо експериментів на тваринах.

Експериментальних тварин з вихідною масою 170–180 г рандомізували методом випадкової вибірки. Усі піддослідні тварини були поділені на наступні групи: I. Контроль (n = 6); II. Гепатит (n = 6); III. Гепатит + LOLA (n = 6); IV. Гепатит + LOLA + L-NAME (n = 6).

Гострий токсичний гепатит моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням CCl₄ з розрахунку 2 г/кг маси тіла у вигляді 50 % розчину на оливковій олії [12]. Контрольна група тварин отримувала ідентичний об'єм оливкової олії. Корируючі речовини вводили протягом 6 діб інтраперитонеально, один раз на добу, щоденно. Дослідження проводили на 7 добу.

Дози корируючих речовин: LOLA (Мерц Фарма ГмбХ і Ко.) вводили в дозі 200 мг/кг маси тварини, N-нітро-

L-аргінін метиловий ефір (L-NAME) (Oldrich Chem Co), конкурентний неселективний інгібітор синтезу NO [13], – по 10 мг/кг маси щура у вигляді 1 % водного розчину.

Біохімічні дослідження. Активність аланінамінотрансферази (АЛТ) та аспартатамінотрансферази (АСТ) досліджували за методом Райтмана–Френкеля (стандартний набір реактивів ТОВ «Спайнлаб»). Для визначення активності лужної фосфатази (ЛФ), гамма-глутамілтрансферази (ГГТ), а також вмісту загального білірубіну (ЗБ) і загального холестеролу (ЗХ) у сироватці крові використовували стандартні набори реактивів ТОВ «Спайнлаб».

Морфологічні дослідження. Гістологічні зрізи готували на роторному мікромомі Amos AMR-400 товщиною 4–5 мкм, забарвлювали гематоксиліном та еозином відповідно до стандартних протоколів. Дослідження мікропрепаратів і фотореєстрацію проводили за допомогою мікроскопа Eclipse Ci-E (Японія) з цифровою фотокамерою Sigeta M3CMOS 14000.

Статистичний аналіз результатів дослідження. Для статистичної обробки результатів використовували однофакторний дисперсійний аналіз за допомогою програм Origin 7.5 (Origin Lab Corporation, USA), Statistica 10 (StatSoft, USA) та Microsoft Excel XP (USA). Дані наведено у вигляді $M \pm m$, де M – середня величина, а m – стандартна похибка середньої величини.

Результати та їх обговорення. Препарат LOLA є стабільною сіллю орнітину та аспартату, який має здатність знижувати рівень аміаку в крові [10] та сповільнювати розвиток печінкової енцефалопатії [8]. Раніше було виявлено, що застосування LOLA посилює продукцію синтази оксиду азоту (NOS) як у пацієнтів з цирозом [7], так і за

експериментальної моделі хронічної печінкової недостатності [8].

Зміни синусоїдальної перфузії при ураженні печінки призводять до здавлення синусоїдальних просторів і порушень мікроциркуляції в печінці. Відповідно, збільшення синтезу вазоактивного модулятора NO чи його вивільнення може бути новою ефективною стратегією запобігання хворобам печінки та їхнього лікування [14]. NO, синтезований завдяки функції ендотеліальної NOS (eNOS), проявляє захисні властивості при ураженні печінки через регуляцію синусоїдального діаметра, запобігання адгезії нейтрофілів, інгібування агрегації тромбоцитів та поглинання реактивних форм кисню [15]. Значимість NO у печінковій мікроциркуляції підтверджено даними про те, що інгібітори eNOS посилюють ураження печінки, індуковане ішемією/реперфузією, у той час як застосування попередника NO L-аргініну чи донаторів NO покращує стан гепато-біліарної системи [16]. Однак залежність між активністю NOS та ефектами LOLA за гострого токсичного ураження печінки потребує детальнішого вивчення.

Щоб дослідити NO-залежні механізми реалізації гепатопротективних ефектів LOLA, порівнювали дію препарату при функціонуючій і заблокованій активності NOS. Для неселективного інгібування NOS було застосовано L-NAME. Завдяки своїй ліпофільній структурі він добре проникає крізь мембрани [17]. Усередині клітини L-NAME піддається деестерифікації та стає еквівалентом L-нітро-L-аргініну, потужного блокатора всіх ізоформ NOS з преференцією до конститутивної NOS [18]. L-NAME проявляє наростаючий і незворотний інгібуючий вплив на активність NOS.

У даному дослідженні було з'ясовано, що LOLA покращує показники синдромів цитолізу та холестазу, індукованих введенням CCl_4 , переважно через NO-залежний механізм.

Експериментальна модель гострого токсичного гепатиту, викликаного CCl_4 , характеризується специфічними біохімічними та гістоморфологічними змінами, що відтворюють основні ознаки відповідного ураження печінки в людини [19].

На рисунку 1 зображено зміни структури печінки, що виникли на 7 день після моделювання гепатиту без та з корекцією LOLA при нормальній і заблокованій функції NOS.

Через 7 діб після моделювання токсичного гепатиту (II) у печінці виявлялись наступні прояви. Часточкова будова порушувалась. Центральні вени незначно розширювались, проте не містили еритроцитів. Балкова організація частково залишалась збереженою, проте просвіти синусоїдів визначались лише за наявності макрофагів у місцях їхньої ймовірної локалізації. Цитоплазма гепатоцитів по всій величині часточки залишалась з ознаками вираженої переважно білкової дистрофії, її площа значно збільшувалась, що розширювало площу цитоплазми та зменшувало просвіти синусоїдів. Ядра, дещо гіперхромні, візуалізувались у переважній більшості клітин. Міжклітинні контакти залишались частково збереженими. У порталних трактах спостерігалась помірно виражена лімфогістіоцитарна інфільтрація.

На фоні корекції LOLA (III) часточкова будова прогресивно відновлювалась. Центральні вени не візуалізувались. Балкова організація гепатоцитів переважно відновлювалась, просвіти синусоїдів визначались по всій величині часточки, в окремих ділянках вони дещо більше розширювались

і містили незначну кількість еритроцитів і поодинокі макрофаги. Розміри гепатоцитів зменшувались, цитоплазма ставала більш однорідною, різко зменшувались дистрофічні прояви, ядра набували звичайного вигляду, міжклітинні контакти відновлювались. Збільшувалась кількість двоядерних гепатоцитів. У портальних трактах спостерігалась помірно виражена, переважно вогнищева лімфогістіоцитарна інфільтрація.

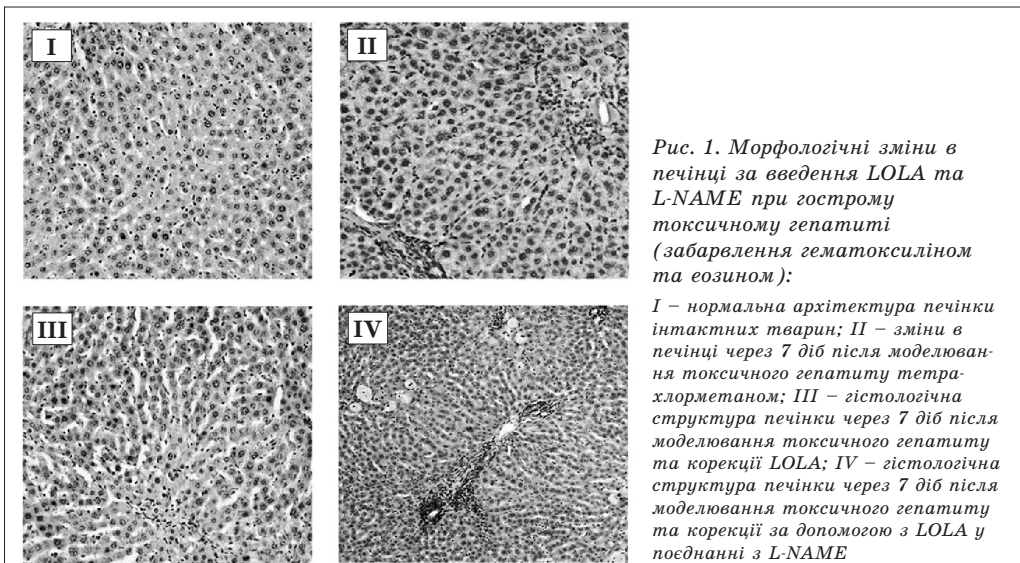
При застосуванні L-NAME (IV) на фоні корекції LOLA часточкова будова відновлювалась, балкова організація залишалась збереженою по всій величині часточки. Центральні вени не візуалізувались, просвіти синусоїдів визначались по всій величині часточки та містили помірну кількість макрофагів. Структура переважної більшості клітин не відрізнялась від норми, цитоплазма ставала більш однорідною, різко зменшувались дистрофічні прояви, ядра набували звичайного вигляду, міжклітинні контакти відновлювались. У портальних трактах спостерігалась помірно виражена, переважно вогнищева лімфогістіоцитарна інфільтрація, яка частково формувала тяжі між

часточками, та частина клітин перипортальних гепатоцитів залишались з ознаками великокрапельної жирової дистрофії.

Отже, застосування L-NAME у щурів з токсичним ураженням печінки на фоні корекції LOLA сповільнювало відновлення гепатоцитів у ділянці портальних трактів, що свідчить про залежність гепатопротективної дії препарату від синтезу NO.

Маса печінки в щурів з гепатитом була достовірно збільшена на 66,67 %. У щурів, що були ліковані LOLA, маса печінки була на 18,18 % меншою, що не було реверсовано застосуванням L-NAME (таблиця).

При ушкодженні печінки підвищується гепатоцелюлярна проникність, тому АЛТ і АСТ вивільняються й проникають у плазму [20], у зв'язку з чим підвищену активність цих ферментів вважають одним з маркерів оцінки печінкового цитолізу. Раніше нами було встановлено, що гепатопротективні ефекти LOLA зумовлені його здатністю запобігати руйнуванню клітин і втраті функціональної цілісності клітинної мембрани гепатоцитів, оскільки препарат сприяв зниженню АЛТ і АСТ в умовах гепатиту [11]. Ефективність LOLA щодо



Маса печінки в щурів з тетрахлорметан-індукованим гепатитом при застосуванні LOLA та L-NAME, $M \pm t$

Показник	I Контроль	II Гепатит	III Гепатит + LOLA	IV Гепатит + LOLA + L-NAME
Маса печінки, г	0,028 ± 0,001	0,046 ± 0,002*	0,038 ± 0,001#	0,033 ± 0,002 ^{NS}

Примітка. * $p < 0,001$ проти групи контролю; # $p < 0,05$ проти групи гепатиту; ^{NS} $p > 0,05$ проти групи лікування LOLA.

зниження активності цих ферментів при хронічних захворюваннях печінки підтверджено й у роботах інших авторів [21, 22].

Дане дослідження свідчить про те, що застосування L-NAME нівелює ефективність LOLA у попередженні зростання активності ферментів-маркерів цитолізу АЛТ (рис. 2 А) і АСТ (рис. 2 Б), що обґрунтовує значимість NOS у механізмі антицитолітичної дії LOLA.

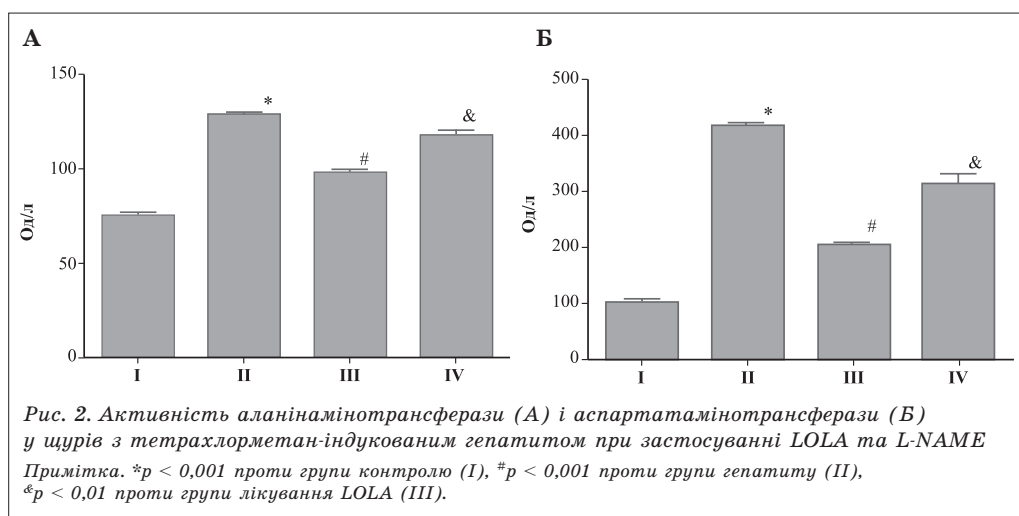
Внутрішньопечінковий холестаза розвивається через набрякання гепатоцитів, що призводить до оклюзії жовчних протоків і, як наслідок, перевантаження гепатоцитів речовинами, екскреція яких стає неможливою, у зв'язку з чим вони потрапляють у системний кровотік [23]. Холестаза сприяє збільшенню концентрації всіх складових жовчі, а саме: холестеролу, жовчних кислот і білі-

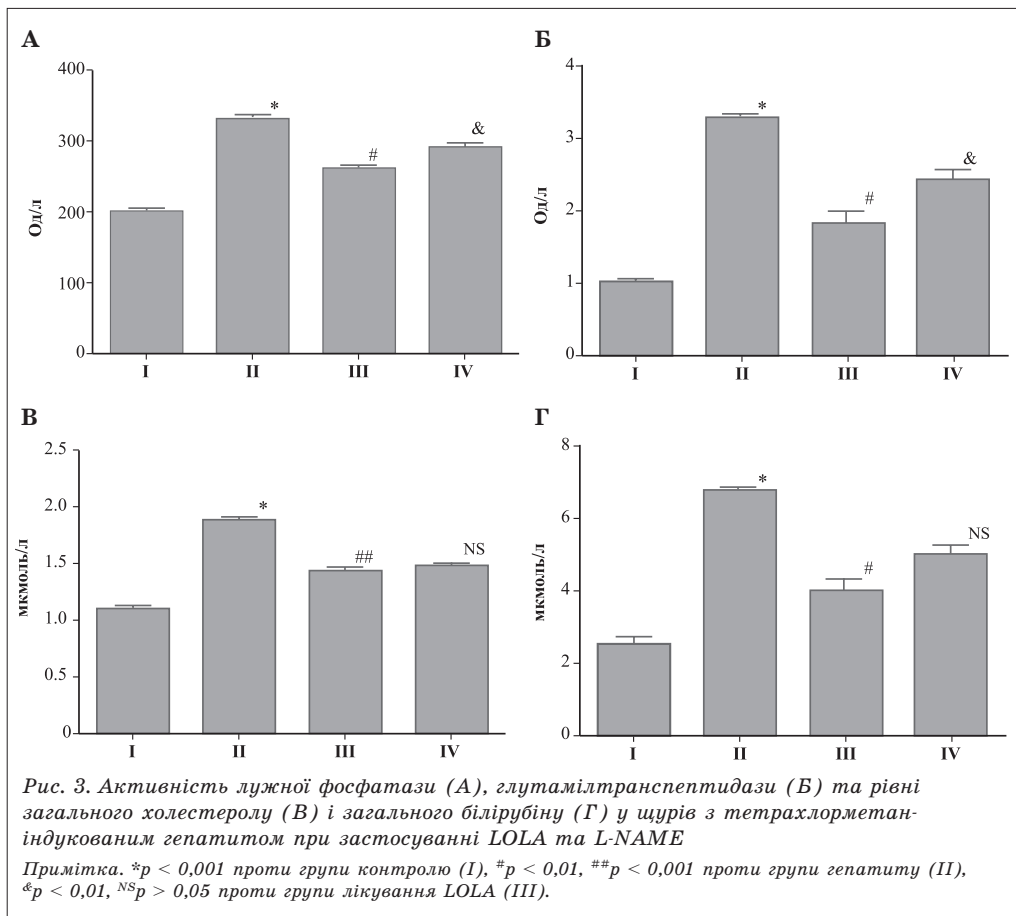
рубіну [23], а також активності ЛФ і ГГТ [24].

У попередній роботі ми продемонстрували, що LOLA запобігає підвищенню активності ЛФ, ГГТ і сприяє зниженню концентрації ЗБ і ЗХ [11], що свідчить про здатність препарату пригнічувати холестаза.

Результати даного дослідження свідчать про те, що LOLA знижує активність ЛФ (рис. 3 А) і ГГТ (рис. 3 Б) через NO-залежний механізм, оскільки одночасне введення L-NAME нівелювало ці ефекти препарату.

У той самий час введення обох засобів не порушувало здатність LOLA пригнічувати CCl_4 -індуковане підвищення ЗХ (рис. 3 В) і не викликало достовірних змін у концентрації ЗБ (рис. 3 Г), що свідчить про незалежний від активності NOS шлях реалізації цих ефектів.





Висновки

Таким чином, дані проведеного дослідження свідчать про те, що через 7 днів після токсичного ураження печінки, зумовленого тетрахлорметаном, LOLA запобігає цитолізу та підвищенню активності ЛФ і ГГТ через NO-залежний механізм, однак зниження вмісту ЗБ і ЗХ відбувається

шляхом, незалежним від активності NOS. Отримані результати свідчать про доцільність подальшого встановлення молекулярних мішеней, завдяки яким LOLA реалізує гепатопротективну дію, а саме, пригнічує прояви надмірної ліпопероксидації та ендоцитозу, покращує метаболічну функцію печінки.

1. Kircheis G., Lüth S. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) in Hepatic Encephalopathy. *Drugs* [Internet]. 2019. V. 79 (s1). P. 23–29. <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1023-2>.
2. Похилько С. Ю. Застосування L-орнітин- L-аспартату (Гепатокс) у клінічній практиці. *Гепатологія*. 2018. № 7 (3). С. 41–43.
3. Butterworth R. F., Canbay A. Hepatoprotection by L-Ornithine L-Aspartate in Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. *Dig Dis*. 2018. V. 37 (1). P. 63–68.
4. Reduction in hyperammonaemia by ornithine phenylacetate prevents lipopolysaccharide-induced brain edema and coma in cirrhotic rats. G. Wright, B. Vairappan, V. Stadlbauer et al. *Liver Int*. 2012. V. 32 (3). P. 410–419.
5. Effect of L-ornithine L-aspartate against thioacetamide-induced hepatic damage in rats. A. K. Najmi, K. K. Pillai, S. N. Pal et al. *Indian. J. Pharmacol*. 2010. V. 42 (6). P. 384–387.
6. Ijaz S., Yang W., Winslet M. C. The role of nitric oxide in the modulation of hepatic microcirculation and tissue oxygenation in an experimental model of hepatic steatosis. *Microvasc. res*. 2005. V. 70 (3). P. 129–136.

7. Effects of ornithine aspartate on plasma ammonia and plasma amino acids in patients with cirrhosis. U. Staedt, H. Leweling, R. Gladisch et al. *J. Hepatol.* 1993. V. 19 (3). P. 424–430.
8. L-ornithine-L-aspartate lowers plasma and cerebrospinal fluid ammonia and prevents brain edema in rats with acute liver failure. C. Rose, A. Michalak, K. V. Rao et al. *Hepatology.* 1999. V. 30 (3). P. 636–640.
9. Oral L-ornithine-L-aspartate therapy of chronic hepatic encephalopathy: results of a placebo-controlled double-blind study. S. Stauch, G. Kircheis, G. Adler et al. *J. Hepatol.* 1998. V. 28 (5). P. 856–864.
10. L-ornithine phenylacetate attenuates increased arterial and extracellular brain ammonia and prevents intracranial hypertension in pigs with acute liver failure. L. M. Ytrebø, R. G. Kristiansen, H. Mæhre et al. *Hepatology.* 2009. V. 50 (1). P. 165–174.
11. Hepatoprotective effects of L-ornithine-L-aspartate in toxic liver injury. O. M. Oleshchuk, V. A. Datsko, H. Ya. Loi et al. *Pharmacology Online.* 2021. V. 3. P. 146–155.
12. Janakat H. A. Optimization of the dose and route of injection, and characterization of the time course of carbon tetrachloride-induced hepatotoxicity in the rat. *J. Pharmacol. Toxicol. Methods.* 2002. V. 48 (1). P. 41–44.
13. Jan V., Valacchi G. Arginine-Based Inhibitors of Nitric Oxide Synthase. *Mediat. Inflammatio.* 2012. V. 2012. P. 1–22.
14. Oleshchuk O. M. The impact of modulators of nitric oxide synthesis on biochemical indices of liver in rats. *Fiziol. Zh.* 2014. V. 60 (2). P. 57–62.
15. Endogenous nitric oxide and exogenous nitric oxide supplementation in hepatic ischemia-reperfusion injury in the rat. C. Peralta, R. Rull, A. Rimola et al. *Transplantation.* 2001. V. 71. P. 529–536.
16. Shah V. Nitric oxide in liver transplantation: pathobiology and clinical implications. *Liver Transpl.* 2003. V. 9. P. 1–11.
17. Kerwin J. F., Lancaster F. P. Nitric oxide: a new paradigm for second messengers. *J. Med. Chem.* 1995. V. 38 (22). P. 4343–4362.
18. Selective inhibition of constitutive nitric oxide synthase by L-NG-nitroarginine. E. S. Furfine, M. F. Harmon, J. E. Paith et al. *Biochemistry.* 1993. V. 32 (33). P. 8512–8517.
19. Experimental models for hepatic encephalopathy. D. Díaz-Gómez, M. Jover, J. A. del-Campo et al. *Rev. Española Enfermedades Dig.* 2011. V. 103 (10). P. 536–541.
20. Acquired liver injury in the intensive care unit. T. Lescot, C. Karvellas, M. Beaussier, S. Magder. *Anesthesiology.* 2012. V. 117 (4). P. 898–904.
21. Grungreiff K., Lambert-Baumann J. Efficacy of L-ornithin-L-aspartate-granules in chronic liver diseases. *Medizinische Welt-Stuttgart.* 2001. V. 52 (7). P. 219–226.
22. Aspartate-ornithine granules in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis: a multiple-dose parallel controlled clinical trial. L. Y. Tian, L. G. Lu, C. W. Tang et al. *Chinese J. Hepatol.* 2013. V. 21 (7). P. 528–532.
23. Rothuizen J. Important Clinical Syndromes Associated with Liver Disease. *Vet Clin North Am – Small Anim Pract* [Internet]. 2009. V. 39 (3). P. 419–437. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.02.007>.
24. Toxic hepatitis in occupational exposure to solvents. G. Malaguarnera, E. Cataudella, M. Giordano et al. *World J. Gastroenterol.* 2012. V. 18 (22). P. 2756–2766.

В. А. Дацко, О. М. Олещук, Г. Я. Лой, М. П. Кланца, Т. В. Дацко, М. І. Луканюк, В. В. Черняшова, К. А. Посохова, І. П. Мосейчук, А. З. Ничик

Дослідження NO-залежного механізму дії L-орнітину L-аспартату щодо синдрому цитолізу та холестазу

Мета дослідження – з'ясувати залежність між синтезом оксиду азоту (NO) і реалізацією гепатопротективних ефектів L-орнітину L-аспартату (LOLA) при синдромах цитолізу та холестазу, індукованих токсичним ураженням печінки тетрахлорметаном (CCl₄).

Дослідження проведено на 24 білих статевозрілих нелінійних щурах-самцях. Гострий токсичний гепатит моделювали одноразовим внутрішньоочеревинним введенням CCl₄ з розрахунку 2 г/кг маси тіла у вигляді 50 % розчину на оливковій олії. Корируючі речовини вводили протягом 6 днів інтраперитонеально, один раз на добу, щоденно. Дослідження проводили на 7 добу. LOLA вводили в дозі 200 мг/кг маси тварини, N-нітро-L-аргінін метиловий ефір (L-NAME) – по 10 мг/кг маси щура у вигляді 1 % водного розчину. Біохімічні дослідження проводили за допомогою стандартних наборів реактивів «Спайнлаб». Гістологічні зрізи тканин печінки забарвлювали гематоксиліном та еозином. Для статистичної обробки результатів використовували однофакторний дисперсійний аналіз за допомогою програм Origin 7.5 (Origin Lab Corporation, USA), Statistica 10 (StatSoft, USA) та Microsoft Excel XP (USA).

Результати дослідження свідчать про те, що застосування L-NAME, конкурентного неселективного інгібітора синтезу NO, у щурів з токсичним ураженням печінки на фоні корекції LOLA сповільнювало відновлення гепатоцитів у ділянці портальних трактів і нівелювало ефективність LOLA у поперед-

женні зростання активності аланінамінотрансферази й аспартатамінотрансферази. Лікування LOLA сприяло також зниженню активності лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази, однак одночасне введення L-NAME реверсувало ці ефекти препарату. Втрата ефективності LOLA у разі застошування L-NAME означає, що препарат реалізує ці ефекти через залежний від синтезу NO механізм. У той самий час введення L-NAME не порушувало здатність LOLA пригнічувати CCl_4 -індуковане збільшення маси печінки, підвищення загального холестеролу і не викликало достовірних змін концентрації загального білірубину, що свідчить про незалежний від активності NO-синтази (NOS) шлях реалізації цих ефектів.

Таким чином, через 7 днів після токсичного ураження печінки, зумовленого CCl_4 , LOLA запобігає цитолізу та підвищенню активності лужної фосфатази та гамма-глутамілтрансферази через NO-залежний механізм, однак зниження вмісту загального білірубину й загального холестеролу відбувається шляхом, незалежним від активності NOS.

Ключові слова: L-орнітин L-аспартат, цитоліз, холестаза, оксид азоту

V. A. Datsko, A. M. Oleshchuk, G. Ya. Loi, M. P. Klantsa, T. V. Datsko, M. I. Lukaniuk, V. V. Cherniashova, K. A. Posokhova, I. P. Moseychuk, A. Z. Nychik

Исследование NO-зависимого механизма действия L-орнитина L-аспартата при синдромах цитолиза и холестаза

Цель исследования – выявить зависимость между синтезом оксида азота (NO) и реализацией гепатопротективных эффектов L-орнитина L-аспартата (LOLA) при синдромах цитолиза и холестаза, индуцированных токсическим поражением печени тетрахлорметаном (CCl_4).

Исследование проведено на 24 белых половозрелых нелинейных крысах-самцах. Острый токсический гепатит моделировали однократным внутривентральным введением CCl_4 из расчета 2 г/кг массы тела в виде 50 % раствора на оливковом масле. Корректирующие вещества вводили в течение 6 суток интраперитонеально, один раз в сутки, ежедневно. Исследования проводили на 7 день. LOLA вводили в дозе 200 мг/кг массы животного, N-нитро-L-аргинин метиловый эфир (L-NAME) – по 10 мг/кг массы крысы в виде 1 % водного раствора. Биохимические исследования проводились с помощью стандартных наборов реактивов «Спайнлаб». Гистологические срезы тканей печени окрашивали гематоксилином и эозином. Для статистической обработки результатов использовали однофакторный дисперсионный анализ с помощью программ Origin 7.5 (Origin Lab Corporation, USA), Statistica 10 (StatSoft, USA) и Microsoft Excel XP (USA).

Результаты исследования свидетельствуют о том, что применение L-NAME, конкурентного неселективного ингибитора синтеза NO, у крыс с токсическим поражением печени на фоне коррекции LOLA замедляло восстановление гепатоцитов в области портальных трактов и нивелировало эффективность LOLA в предупреждении роста активности аланінамінотрансферази и аспартатамінотрансферази. Лечение LOLA способствовало также снижению активности щелочной фосфатазы и гамма-глутамілтрансферази, однако одновременное введение L-NAME реверсировало эти эффекты препарата. Утрата эффективности LOLA в присутствии L-NAME означает, что препарат реализует эти эффекты через зависимый от синтеза NO механизм. В то же время введение L-NAME не нарушало способность LOLA ингибировать CCl_4 -индуцированное увеличение массы печени, повышение общего холестерола и не вызывало достоверных изменений концентрации общего билирубину, что свидетельствует о независимом от активности NO-синтазы (NOS) пути реализации этих эффектов.

Таким образом, через 7 дней после токсического поражения печени, индуцированного CCl_4 , LOLA предотвращает цитоліз и повышение активности щелочной фосфатазы и гамма-глутамілтрансферази через NO-зависимый механізм, однак зниження содержания общего билирубину и общего холестерола происходит путем, независимым от активности NOS.

Ключевые слова: L-орнітин L-аспартат, цитоліз, холестаза, оксид азота

V. A. Datsko, O. M. Oleshchuk, H. Ya. Loi, M. P. Klantsa, T. V. Datsko, M. I. Lukaniuk, V. V. Cherniashova, K. A. Posokhova, I. P. Moseichuk, A. Z. Nychik

Study of the NO-dependent mechanism of L-ornithine L-aspartate action in cytolysis and cholestasis syndromes

The aim of the study was to investigate the association between nitric oxide (NO) synthesis and hepatoprotective effects of L-ornithine L-aspartate (LOLA) in cytolysis and cholestasis syndromes induced by toxic liver injury with carbon tetrachloride (CCl_4).

The study was performed on 24 white adult male rats. Acute toxic hepatitis was induced by a single intraperitoneal injection of carbon tetrachloride at a dose 2 g/kg in the form of 50 % solution, prepared on olive oil. Corrective agents, LOLA (at a dose 200 mg/kg), and N-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME) (at a dose 10 mg/kg in the form of 1 % aqueous solution), were administered intraperitoneally, once a day, for 6 days. The study was performed on day 7th. Biochemical studies were performed using standard reagent kits «Spaynlab». Histological sections of liver tissue were stained with hematoxylin and eosin. One-way analysis of variance and Origin 7.5 (Origin Lab Corporation, USA), Statistica 10 (Stat Soft, USA) and Microsoft Excel XP (USA) were used for statistical processing of the results.

The results of this study indicate that the use of L-NAME, a competitive non-selective inhibitor of NO synthesis, in rats with toxic liver injury treated with LOLA, slowed the recovery of hepatocytes in the portal tract and neutralized the ability of LOLA to prevent the increase in alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase activity. LOLA treatment also reduced alkaline phosphatase and gamma-glutamyltransferase activity, but concomitant administration of L-NAME reversed these effects. Loss of efficacy of LOLA in the presence of L-NAME means that the drug realizes these effects through a mechanism mediated by NO synthesis. At the same time, the introduction of L-NAME did not affect LOLA's properties to inhibit increase in liver weight, augmentation in total cholesterol and total bilirubin concentration, which indicates that these effects are exerted independently on the activity of NO synthase.

Therefore, 7 days after toxic liver injury, induced by carbon tetrachloride, LOLA prevents cytolysis and increase in alkaline phosphatase and gamma-glutamyltransferase activity through a NO-mediated pathway, however, the reduction in total bilirubin and total cholesterol is posed independently on NOS activity.

Key words: L-ornithine L-aspartate, cytolysis, cholestasis, nitric oxide

Надійшла: 12 січня 2022 р.

Прийнята до друку: 16 лютого 2022 р.

Контактна особа: Лой Галина Ярославівна, кандидат медичних наук, асистент, кафедра фармакології з клінічною фармакологією, Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗУ, буд. 1, майдан Волі, м. Тернопіль, 46001. Тел.: + 38 0 97 897 52 39.
Електронна пошта: loy@tdmu.edu.ua