

І. Я. Криницька, Л. Є. Грицишин, Р. С. Усинський, М. І. Марущак, Т. Я. Ярошенко  
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО  
МОЗ УКРАЇНИ

## РОЛЬ НІТРОГЕН (II) ОКСИДУ В МЕХАНІЗМАХ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЕПАТОПУЛЬМОНАЛЬНОГО СИНДРОМУ

**Вступ.** Цироз печінки часто супроводжується ускладненнями з боку легеневої системи, що значно зменшує тривалість життя таких пацієнтів. До легневих ускладнень цирозу печінки належать гідроторакс, портопальмональна гіпертензія та гепатопальмональний синдром (ГПС), поширеність якого варіює від 5 до 30 %. Нітроген (II) оксид (NO) бере участь у більшості метаболічних процесів, що відбуваються в печінці. Незважаючи на велику кількість досліджень, на сьогодні немає чітких уявлень про вплив NO і його метаболітів на біохімічні механізми розвитку ГПС.

**Мета дослідження** – вивчити зміни вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові й бронхоальвеолярному змиві щурів із змодельованим гепатопальмональним синдромом та обґрунтувати роль NO в механізмах ураження легень за умови експериментального ГПС.

**Методи дослідження.** Експерименти проведено на 56 безпородних щурах-самцях масою 180–220 г. Першу дослідну модель ГПС було створено шляхом накладання подвійної лігатури на загальну жовчовивідну протоку і подальшого її пересічення скальпелем, другу – шляхом восьмитижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину тетрахлорметану. Дослідженню підлягали сироватка крові та бронхоальвеолярний змив. Кількісну оцінку вмісту метаболітів NO проводили за визначенням їх суми, яка включала нітрит-іони, що попередньо були наявні у пробі ( $\text{NO}_2^-$ ), та відновлені до нітритів нітрат-іони ( $\text{NO}_3^-$ ).

**Результати й обговорення.** Сумарний вміст метаболітів NO у сироватці крові щурів на 31-шу добу після перев'язування загальної жовчовивідної протоки вірогідно зростав у 3,9 раза ( $p_1 < 0,001$ ) порівняно з 1-ю контрольною групою. У тварин із тетрахлорметаніндукованим цирозом він збільшувався в 3,1 раза ( $p_1 < 0,001$ ). Зміни продукування NO відбувались однонаправлено в бік поглиблення оксидативного стресу як у сироватці крові, так і в бронхоальвеолярному змиві.

**Висновки.** При моделюванні гепатопальмонального синдрому відбувається активація нітроксидергічних процесів за рахунок вірогідного збільшення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві. При зіставленні абсолютних величин вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві виявлено синхронний розвиток нітроксидергічних процесів на системному і місцевому рівнях з переважанням синтезу нітроген (II) оксиду в легенях.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: печінка; цироз; тетрахлорметан; легені; гепатопальмональний синдром; нітроген (II) оксид.

ВСТУП. На сьогодні цироз печінки посідає 11-те місце серед найбільш поширених причин смерті населення. За даними ВООЗ, щороку в світі від цього захворювання, а також його ускладнень помирає понад 1 млн людей, та, за прогнозами, в найближчі десятиліття число пацієнтів, які страждають від цирозу, зросте більш ніж на 60 %, що пов'язано зі значним поширенням токсичних і вірусних уражень печінки [1, 2]. Цироз печінки часто супроводжується ускладненнями з боку легеневої системи, що значно зменшує тривалість життя таких пацієнтів. До

© І. Я. Криницька, Л. Є. Грицишин, Р. С. Усинський, М. І. Марущак, Т. Я. Ярошенко, 2022.

легневих ускладнень цирозу печінки належать гідроторакс, портопальмональна гіпертензія та гепатопальмональний синдром (ГПС), поширеність якого варіює від 5 до 30 %. [3]. Гепатопальмональний синдром характеризується внутрішньолегеневим розширенням мікросудин, яке викликає внутрішньолегеневе шунтування і призводить до порушення газообміну при захворюваннях печінки [4–6].

Функціонування печінки визначається складними механізмами взаємодії гетерогенних субпопуляцій клітин, які формують печінку. Вони включають у себе гепатоцити, макрофаги, клітини жовчних каналів, тканинні базофіли (кліти-

ни Іто), а також ендотеліальні клітини, які вистилають синусоїди. Усі ці клітини здатні генерувати нітроген (II) оксид (NO), який бере участь у більшості метаболічних процесів, що відбуваються в печінці [7, 8].

Нітроген (II) оксид – це високореакційна молекула з періодом піврозпаду від 2 до 30 с, що утворюється при ензиматичному окисненні L- аргініну під впливом цитохром Р450-подібних гемопротеїнів – NO-синтаз). Розрізняють 3 ізоформи цього ензиму: ендотеліальну, нейрональну, або мозкову, та індуцибельну, чи макрофагальну. Будучи ліпофільною молекулою, NO легко дифундує через клітинні мембрани та проникає в сусідні клітини (наприклад, з ендотеліальних у міоцити судин), де циклічний гуанозинмонофосфат, що утворюється, знижує рівень вільного кальцію та активує кіназу легкого ланцюга міозину, викликаючи тим самим дилатацію судини [9, 10].

Доведено, що NO проявляє різнобічну дію: з одного боку, є компонентом запальних процесів, з іншого – найважливішим медіатором клітинного метаболізму. Прояв захисної або ушкоджувальної дії NO пов'язують з утворенням великої кількості продуктів його метаболізму, які мають різну біологічну активність [11]. Відмічено, що продукування NO альвеолами може відігравати важливу роль у порушеннях гемодинаміки і змінах газообміну в пацієнтів із цирозом печінки. Так, встановлено пряму залежність між альвеолярним продукуванням NO і гіпердинамічним типом кровообігу [12]. Крім того, при експериментальному цирозі печінки у щурів спостерігали гіперекспресію як індуцибельної, так і конституційної ізоформи NO-синтази в альвеолярних макрофагах та клітинах легеневого ендотелію [13]. Незважаючи на велику кількість досліджень, на сьогодні немає чітких уявлень про вплив NO і його метаболітів на біохімічні механізми розвитку гепатопульмонального синдрому.

Мета дослідження – вивчити зміни вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові й бронхоальвеолярному змиві щурів із змодельованим гепатопульмональним синдромом та обґрунтувати роль NO в механізмах ураження легень за умови експериментального ГПС.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Експерименти проведено на 56 безпородних щурах-самцях масою 180–220 г. У процесі моделювання патології 8 тварин загинуло. Першу дослідну модель ГПС було створено шляхом накладання подвійної лігатури на загальну жовчовивідну протоку і подальшого її пересічення скальпелем [14]. У тварин 1-ї контрольної групи цю протоку відді-

лили від тканин, але не пересікали. Післяопераційну рану пошарово, наглухо зашивали. На 31-шу добу після операції щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом.

Другу дослідну модель ГПС було створено шляхом восьмитижневого внутрішньошлункового введення олійного розчину  $CCl_4$  (400 г на 1 л) у дозі 0,5 мл на 100 г маси тіла тварини в перший день експерименту, 0,3 мл на 100 г на третій день і далі кожного третього дня до закінчення експерименту 0,3 мл на 100 г. Додатково в раціон щурів ввели суміш кукурудзяної муки, смальцю і холестеролу та розчин алкоголю. Тварини 2-ї контрольної групи перебували на стандартному раціоні віварію та отримували внутрішньошлунково оливкову олію в еквівалентній кількості [15].

Усі маніпуляції з експериментальними тваринами проводили, дотримуючись правил відповідно до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986) [16].

Дослідженню підлягали сироватка крові та бронхоальвеолярний змив (БАЗ). Кількісну оцінку вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду проводили за визначенням їх суми, яка включала нітрит-іони, що попередньо були наявні у пробі ( $NO_2^-$ ), та відновлені до нітритів нітрат-іони ( $NO_3^-$ ) [17]. Відновлення здійснювали за допомогою цинкового пилу в кислому середовищі. Нітрити із сульфаніловою кислотою вступають у реакцію діазотування, отримане діазосполучення з N-1-нафтилетилендіаміном утворює азобарвник. Оптичну густину одержаного забарвленого розчину вимірювали спектрофотометрично в максимумі поглинання при довжині хвилі 536 нм.

Статистичну обробку отриманих даних проведено стандартними методами варіаційної статистики з використанням пакета статистичних програм. Результати наведено як ( $M \pm m$ ), де M – середнє значення показника, m – стандартна похибка. Вірогідність розбіжностей між досліджуваними показниками визначали за допомогою двовибіркового критерію Стьюдента. Кореляційний аналіз проводили між досліджуваними показниками. Виразовували коефіцієнт лінійної кореляції (r) та його вірогідність (p), що відповідним чином позначалося в таблицях (кореляційних матрицях). Показник  $r=0$  свідчив про відсутність зв'язку, показник у діапазоні 0–0,29 – про слабку кореляцію, проміжок показника 0,30–0,69 характеризував зв'язок середньої сили, а інтервал 0,70–1,00 вказував на значну кореляційну взаємодію. Коефіцієнт кореляції оцінювали як вірогідний при  $p < 0,05$ .

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Сумарний вміст метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові щурів 1-ї дослідної групи (на 31-шу добу після перев'язування загальної жовчовивідної протоки) вірогідно зростав у 3,9 раза ( $p_1 < 0,001$ ) порівняно з 1-ю контрольною групою (табл.). У тварин 2-ї дослідної групи (тетрахлорметаніндукований цироз) він також вірогідно збільшувався в 3,1 раза ( $p_1 < 0,001$ ). Важливим є зіставлення вмісту метаболітів NO у сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві, який прямо відображає процеси у легеневій тканині. Встановлено, що зміни продукування NO відбувались однонаправлено в бік поглиблення оксидативного стресу. Так, сумарний вміст метаболітів NO в БАЗ щурів 1-ї дослідної групи вірогідно підвищувався в 5,8 раза ( $p_1 < 0,001$ ), а у тварин 2-ї дослідної групи – в 4,5 раза ( $p_1 < 0,001$ ).

Проведений кореляційний аналіз показав, що при моделюванні ГПС шляхом перев'язування загальної жовчовивідної протоки сумарний вміст метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові мав високий позитивний корелятивний зв'язок із вмістом  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в БАЗ ( $r = 0,87$ ) ( $p < 0,01$ ). При тетраклорметаніндукованому цирозі (друга дослідна модель) сумарний вміст метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові також мав високий позитивний корелятивний зв'язок з вмістом  $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$  в БАЗ ( $r = 0,84$ ) ( $p < 0,01$ ). Це свідчить про однонаправленість змін нітродергічних процесів у крові та легенях при використаних моделях ГПС.

Імовірно, синтез нітроген (II) оксиду за умови експериментального гепатопульмонального синдрому посилювався за рахунок активації індукцйбельної NO-синтази під впливом прозапальних цитокінів та ендотоксинів, що зумовлювало збільшення продукування NO клітинами Купфера печінки й альвеолярними макрофагами. Результати досліджень, які ми отримали,

збігаються з результатами досліджень інших авторів. Так, М. В. Fallon встановив і підкреслив роль NO в експериментальній моделі цирозу печінки, при якій гіперекспресія ендотеліальної ізоформи NO-синтази легеневици судинами призводила до збільшення продукування ендотеліну-1 холангіоцитами, в результаті чого підвищувались експресія ендотелінових рецепторів типу В до ендотеліну-1 на рівні легеневици судин і синтез NO [18]. Рівень NO у видихуваному повітрі зростав у пацієнтів із ГПС і повертався до норми через 3–12 місяців після трансплантації печінки [19]. В. Degano та ін. в аналогічному дослідженні виявили, що концентрація NO у видихуваному повітрі у хворих на цироз печінки перевищувала таку в здорових людей у 3 рази [12]. При застосуванні методу проточної цитофлюориметрії, який дозволяє диференціювати альвеолярне та бронхіальне походження NO, було визначено основне альвеолярне збільшення утворення NO [20]. Відмічено, що продукування NO альвеолами може відігравати важливу роль у порушеннях гемодинаміки і змінах газообміну в пацієнтів із цирозом печінки. Так, встановлено пряму залежність між альвеолярним продукуванням NO і гіпердинамічним типом кровообігу [21]. Крім того, при експериментальному цирозі печінки у щурів спостерігали гіперекспресію як індукцйбельної, так і конституційної ізоформи NO-синтази в альвеолярних макрофагах та клітинах легеневого ендотелію [22]. Проте подальші дослідження NO показали, що, незважаючи на вищевказане, питання щодо його зв'язку з портальною гіпертензією, гіпердинамічним типом кровообігу та ступенем ураження печінки залишається невирішеним [23]. Крім того, в літературі описано інші молекулярні механізми розширення судин – не залежні від нітроген (II) оксиду: ензиматичне утворення CO через збільшення експресії

Таблиця – Зміни вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві щурів із змодельованим гепатопульмональним синдромом ( $M \pm m$ )

Показник	Група тварин			
	1-ша контрольна (n=12)	1-ша дослідна (n=12)	2-га контрольна (n=12)	2-га дослідна (n=12)
Сироватка крові				
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , мкмоль/л	36,7±6,0	143,4±14,8 $p_1 < 0,001$	33,4±4,4	104,2±9,3 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$
БАЗ				
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ , мкмоль/л	14,1±3,2	81,7±7,6 $p_1 < 0,001$	12,0±3,2	54,7±6,9 $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$

Примітки:

1.  $p_1$  – різниця вірогідна порівняно з контрольними тваринами.
2.  $p_2$  – різниця вірогідна порівняно з дослідними тваринами.

гемоксигенази-1, ензиматичне утворення H<sub>2</sub>S і стимулювання кальційактивованих калієвих каналів через ендотеліальне похідне – гіперполіризуєчий фактор [24, 25].

**ВИСНОВКИ.** При моделюванні гепатопульмонального синдрому відбувається активація нітросидергічних процесів за рахунок вірогідно-

го збільшення вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві. При зіставленні абсолютних величин вмісту метаболітів нітроген (II) оксиду в сироватці крові та бронхоальвеолярному змиві виявлено синхронний розвиток нітросидергічних процесів на системному і місцевому рівнях з переважанням синтезу нітроген (II) оксиду в легенях.

#### СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Ретроспективний аналіз летальних випадків від цирозу печінки за 20 річний період / О. С. Проценко, Н. О. Ткаченко, Н. О. Ремньова, В. Ф. Омельченко // Укр. журн. медицини, біології та спорту. – 2021. – № 1 (29). – С. 119–124.
2. Burden of liver diseases in the world / S. K. Asrani, H. Devarbhavi, J. Eaton, P. S. Kamath // *J. Hepatol.* – 2019. – No. 70 (1). – P. 151–171.
3. Гепатопульмональний синдром. Обзор литературы / В. В. Потий, В. Т. Кириенко, Е. И. Глухова [и др.] // Укр. журн. медицини, біології та спорту. – 2021. – № 3 (31). – С. 45–52.
4. Update on current and emergent data on hepatopulmonary syndrome / S. Soulaïdopoulos, E. Cholongitas, G. Giannakoulas [et al.] // *World J. Gastroenterol.* – 2018. – No. 24 (12). – P. 1285–1298.
5. International Liver Transplant Society Practice Guidelines: Diagnosis and Management of Hepatopulmonary Syndrome and Portopulmonary Hypertension / M. J. Krowka, M. B. Fallon, S. M. Kawut [et al.] // *Transplantation.* – 2016. – No. 100 (7). – P. 1440–1452.
6. Krowka M. J. Hepatopulmonary syndrome and portopulmonary hypertension: The pulmonary vascular enigmas of liver disease / M. J. Krowka // *Clin. Liver Dis. (Hoboken).* – 2020. – No. 15 (Suppl. 1). – P. S13–S24.
7. Продукція оксиду азоту в печінці за умов впливу ацетату свинцю в експерименті / О. Л. Апихтіна, А. В. Коцюруба, І. М. Андрусишина [та ін.] // *Современные проблемы токсикологии.* – 2007. – № 2. – С. 22–26.
8. Олещук О. М. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на біохімічні показники функціонального стану печінки здорових щурів / О. М. Олещук // *Фізіол. журн.* – 2014. – № 2 (160). – С. 58–62.
9. Tejero J. Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen species and their regulation / J. Tejero, S. Shiva, M. T. Gladwin // *Physiol. Rev.* – 2019. – No. 99 (1). – P. 311–379.
10. Nitric oxide and endothelial dysfunction / A. R. Cyr, L. V. Huckaby, S. S. Shiva, B. S. Zuckerbraun // *Crit. Care Clin.* – 2020. – No. 36 (2). – P. 307–321.
11. Копильчук Г. П. Вміст оксиду азоту та S-нітрозотіолів у клітинах печінки щурів за умов різного забезпечення харчового раціону макронутрієнтами / Г. П. Копильчук, І. М. Николайчук, О. М. Кузяк // *Біол. системи.* – 2020. – 12, вип. 2. – С. 187–195.
12. Nitric oxide production by the alveolar compartment of the lungs in cirrhotic patients / B. Degano, M. Mittaine, P. Herve [et al.] // *European respiratory Journal.* – 2009. – No. 34 (1). – P. 138–144.
13. Analysis of pulmonary heme oxygenase-1 and nitric oxide synthase alterations in experimental hepatopulmonary syndrome / J. Zhang, Y. Ling, B. Luo [et al.] // *Gastroenterology.* – 2003. – No. 125. – P. 1441–1451.
14. Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon, G. A. Abrams, J. W. McGrath [et al.] // *Am. J. Physiol.* – 1997. – No. 272. – P. 779–784.
15. Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: A new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia / H. Y. Zhang, D. W. Han, Z. F. Zhao [et al.] // *World J. Gastroenterology.* – 2007. – No. 13 (25). – P. 3500–3507.
16. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 1986. – 123. – P. 52.
17. Визначення концентрації метаболітів оксиду азоту в сироватці крові / В. В. Козар, М. Я. Кудря, Н. В. Устенко [та ін.] // *Лаб. діагностика.* – 2010. – № 3 (53). – С. 14–16.
18. Fallon M. B. Mechanisms of pulmonary vascular complications of liver disease. Hepatopulmonary syndrome / M. B. Fallon // *J. Clin. Gastroenterol.* – 2005. – No. 39, Suppl. 2. – P. 138–142.
19. Rolla G. Exhaled nitric oxide and impaired oxygenation in cirrhotic patients before and after liver transplantation / G. Rolla, L. Brussino, P. Colagrande // *Ann. Intern. Med.* – 1998. – No. 129. – P. 375–378.
20. Increased nitric oxide output from alveolar origin during liver cirrhosis versus bronchial source during asthma / C. Delclaux, B. Mahut, F. Zerah-Lancner [et al.] // *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* – 2002. – No. 165. – P. 332–337.
21. Whittle B. Nitric oxide: the elusive mediator of the hyperdynamic circulation of cirrhosis / B. Whittle, S. Moncada // *Hepatology.* – 1992. – No. 16. – P. 1089–1092.
22. Analysis of pulmonary heme oxygenase-1 and nitric oxide synthase alterations in experimental hepatopulmonary syndrome / J. Zhang, Y. Ling, B. Luo [et al.] // *Gastroenterology.* – 2003. – No. 125. – P. 1441–1451.
23. Effects of nebulized N(G)-nitro-L-arginine methyl ester in patients with hepatopulmonary syndrome / F. P. Gomez, J. A. Barbera, J. Roca [et al.] // *Hepatology.* – 2006. – No. 43. – P. 1084–1091.

24. Vascular function and endothelin-1: tipping the balance between vasodilatation and vasoconstriction / S. K. Nishiyama, J. Zhao, D. W. Wray, R. S. Richardson // *J. Appl. Physiol.* – 2017. – No. 122. – P. 354–360.

25. Splenic tyrosine kinase promotes pulmonary angiogenesis in rats with hepatopulmonary syndrome / W. Z. Gao, Y. H. Yang, L. Dan, X.W. Zhu // *Sheng Li Xue Bao.* 2020. – No. 72 (6). – P. 785–792.

## REFERENCES

1. Protsenko, O.S., Tkachenko, N.O., Remnova, N.O., Omelchenko, V. F. (2021). Retrospective analysis of deaths from cirrhosis of the liver over a 20-year period. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*, 6, 1 (29), 119-124 [in Ukrainian].

2. Asrani, S.K., Devarbhavi, H., Eaton, J., Kamath, P.S. (2019). Burden of liver diseases in the world. *J. Hepatol.*, 70 (1), 151-171.

3. Potiy, V.V., Kiriienko, V.T., Glukhova, Ye.I., Kunitskaya, O.S., Potiy, D.A. (2021). Hepatopulmonary syndrome. Literature review. *Ukrainian Journal of Medicine, Biology and Sports*, 6, 3 (31), 45-52 [in Russian].

4. Soulaïdopoulos, S., Cholongitas, E., Giannakoulas, G., Vlachou, M., Goulis, I. (2018). Update on current and emergent data on hepatopulmonary syndrome. *World J. Gastroenterol.*, 24 (12), 1285-1298.

5. Krowka, M.J., Fallon, M.B., Kawut, S.M., Fuhrmann, V., Heimbach, J.K., Ramsay, M.A. (2016). International Liver Transplant Society Practice Guidelines: Diagnosis and Management of Hepatopulmonary Syndrome and Portopulmonary Hypertension. *Transplantation*, 100 (7), 1440-1452.

6. Krowka, M.J. (2020). Hepatopulmonary syndrome and portopulmonary hypertension: The pulmonary vascular enigmas of liver disease. *Clin. Liver Dis. (Hoboken)*, 15 (Suppl. 1), S13-S24.

7. Apykhtina, O.L., Kotsyuruba, A.V., Andrusyshyna, I.M., Lampeka, O.H., Korkach, Yu.P. (2007). Production of nitric oxide in the liver under conditions of exposure to lead acetate in the experiment. *Modern Problems of Toxicology*, 2, 22-26. [in Ukrainian].

8. Oleschuk, O.M. (2014). The effect of modulators of nitric oxide synthesis on biochemical indicators of the functional state of the liver of healthy rats. *Physiological Journal*, 2 (160), 58-62. [in Ukrainian].

9. Tejero, J., Shiva, S., Gladwin, M.T. (2019). Sources of vascular nitric oxide and reactive oxygen species and their regulation. *Physiol. Rev.*, 99 (1), 311-379.

10. Cyr, A.R., Huckaby, L.V., Shiva, S.S., Zuckerbraun, B.S. (2020). Nitric oxide and endothelial dysfunction. *Crit. Care Clin.*, 36 (2), 307-321.

11. Kopylchuk, H.P., Nykolaychuk I.M., Kuzyak, O.M. (2020). The content of nitric oxide and S-nitrosothiols in the liver cells of rats under conditions of different provision of the diet with macronutrients. *Biological Systems*, 12 (2), 187-195 [in Ukrainian].

12. Degano, B., Mittaine, M., Hervé, P., Rami, J., Kamar, N., Suc, B., Rivière, D., Rostaing, L. (2009). Nitric oxide production by the alveolar compartment of the lungs in cirrhotic patients. *Eur. Respir. J.*, 34 (1), 138-144.

13. Zhang J., Ling Y., Luo B., Tang L., Ryter S.W., Stockard C.R., Grizzle W.E., Fallon M.B. (2003). Analysis

of pulmonary heme oxygenase-1 and nitric oxide synthase alterations in experimental hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology*, 125 (5), 1441-1451.

14. Fallon, M.B., Abrams, G.A., McGrath, J.W., Hou, Z., Luo, B. (1997). Common bile duct ligation in the rat: a model of intrapulmonary vasodilatation and hepatopulmonary syndrome. *Am. J. Physiol.*, 272 (4 Pt 1), G779-784.

15. Zhang, H.Y., Han, D.W., Zhao, Z.F., Liu, M.S., Wu, Y.J., Chen, X.M., Ji, C. (2007). Multiple pathogenic factor-induced complications of cirrhosis in rats: a new model of hepatopulmonary syndrome with intestinal endotoxemia. *World J. Gastroenterol.*, 13 (25), 3500-3507.

16. (1986). European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. Council of Europe. Strasbourg, 123, 52.

17. Kozar, V.V., Kudrya, M.Ya., Ustenko, N.V., Nikishina, L.E., Kravchenko, S.V. (2010). Determination of the concentration of nitric oxide metabolites in blood serum. *Laboratory Diagnostics*, 3 (53), 14-16 [in Ukrainian].

18. Fallon, M.B. (2005). Mechanisms of pulmonary vascular complications of liver disease: hepatopulmonary syndrome. *J. Clin. Gastroenterol.*, 39 (4 Suppl 2), S138-142.

19. Rolla, G., Brussino, L., Colagrande, P., Scappaticci, E., Morello, M., Bergerone, S., Ottobreilli, A., Cerutti, E., Polizzi, S., Bucca, C. (1998). Exhaled nitric oxide and impaired oxygenation in cirrhotic patients before and after liver transplantation. *Ann. Intern. Med.*, 129 (5), 375-378.

20. Delclaux, C., Mahut, B., Zerah-Lancner, F., Delacourt, C., Laoud, S., Cherqui, D., Duvoux, C., Mallat, A., Harf, A. (2002). Increased nitric oxide output from alveolar origin during liver cirrhosis versus bronchial source during asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.*, 165 (3), 332-337.

21. Whittle, B.J., Moncada, S. (1992). Nitric oxide: the elusive mediator of the hyperdynamic circulation of cirrhosis? *Hepatology*, 16 (4), 1089-1092.

22. Zhang, J., Ling, Y., Luo, B., Tang, L., Ryter, S.W., Stockard, C.R., Grizzle, W.E., Fallon, M.B. (2003). Analysis of pulmonary heme oxygenase-1 and nitric oxide synthase alterations in experimental hepatopulmonary syndrome. *Gastroenterology*, 125 (5), 1441-1451.

23. Gómez, F.P., Barberà, J.A., Roca, J., Burgos, F., Gistau, C., Rodríguez-Roisin, R. (2006). Effects of nebulized N(G)-nitro-L-arginine methyl ester in patients with hepatopulmonary syndrome. *Hepatology*, 43 (5), 1084-1091.

24. Nishiyama, S.K., Zhao, J., Wray, D.W., Richardson, R.S. (2017). Vascular function and endothelin-1: tipping the balance between vasodilatation and vasoconstriction. *J. Appl. Physiol.*, 122, 354-360.

25. Gao, W.Z., Yang, Y.H., Dan, L., Zhu, X.W. (2020). Splenic tyrosine kinase promotes pulmonary angiogenesis in rats with hepatopulmonary syndrome. *Sheng Li Xue Bao*, 72 (6), 785-792.

I. Ya. Krynytska, L. Ye. Hrytsyshyn, R. S. Usynskyi, M. I. Marushchak, T. Ya. Yaroshenko  
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

## THE ROLE OF NITROGEN (II) OXIDE IN THE MECHANISMS OF THE EXPERIMENTAL HEPATOPULMONARY SYNDROME DEVELOPMENT

### Summary

**Introduction.** Liver cirrhosis is often accompanied by complications of the pulmonary system, which significantly reduces the life expectancy of such patients. Pulmonary complications of liver cirrhosis include hydrothorax, portopulmonary hypertension, and hepatopulmonary syndrome (HPS), the prevalence of which varies from 5 to 30 %. Nitrogen (II) oxide (NO) is involved in most metabolic processes occurring in the liver. Despite a large number of studies, today there are no clear ideas about the effect of NO and its metabolites on the biochemical mechanisms of the hepatopulmonary syndrome development.

**The aim of the study** – to investigate changes in the content of nitrogen (II) oxide metabolites in the blood serum and bronchoalveolar lavage of rats with simulated HPS and substantiate the role of NO in the mechanisms of lung damage in experimental HPS.

**Research Methods.** The experiments were carried out on 56 outbred male rats weighing 180–220 g. The first experimental model of HPS was created by applying a double ligation to the common biliary duct and then cutting it with a scalpel. The second experimental model of HPS was created by 8-week intragastric administration of an oily solution of carbon tetrachloride. Blood serum and bronchoalveolar lavage (BAL) were subjects for investigation. The content of NO metabolites was quantified by determining their sum, including nitrite ions previously present in the sample ( $\text{NO}_2^-$ ) and nitrate ions reduced to nitrite ( $\text{NO}_3^-$ ).

**Results and Discussion.** The total content of NO metabolites in the blood serum of rats on the 31st day after ligation of the common bile duct significantly increased by 3.9 times ( $p_1 < 0.001$ ) compared with the control group No. 1. In rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis, the total content of NO metabolites in blood serum increased by 3.1 times ( $p_1 < 0.001$ ). Changes in NO production occurred unidirectionally in the direction of deepening oxidative stress both in blood serum and in BAL.

**Conclusions.** When modeling HPS, nitroxidergic processes are activated due to a possible increase in the content of NO metabolites in the blood serum and BAL. When comparing the absolute values of the content of NO metabolites in the blood serum and BAL, a synchronous development of nitroxidergic processes at the systemic and local levels was revealed with a predominance of nitrogen (II) oxide synthesis in the lungs.

KEY WORDS: liver; cirrhosis; tetrachloromethane; lungs; hepatopulmonary syndrome; nitrogen (II) oxide.

Отримано 31.10.22

Адреса для листування: І. Я. Криницька, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: krynytska@tdmu.edu.ua.