

## МОРФОЛОГІЧНЕ ПІДТВЕРДЖЕННЯ МЕХАНІЗМІВ ПРОТЕКТИВНОЇ ДІЇ L-ОРНІТИНУ L-АСПАРТАТУ ПРИ ЦИРОЗІ ПЕЧІНКИ

©В. А. Дацко, О. М. Олещук, Т. В. Дацко Т. К. Головата

*Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України*

**РЕЗЮМЕ.** Хронічні гепатити В або С, алкогольний гепатит, цукровий діабет, ожиріння, хронічні захворювання жовчовивідних шляхів, автоімунні захворювання тощо – хвороби, які можуть ускладнюватися цирозом печінки. Ця патологія займає перше місце серед причин смертності від захворювань шлунково-кишкового тракту.

**Мета** – встановлення морфологічних змін у печінці при експериментальному цирозі за введення L-орнітину L-аспартату у комбінації з модуляторами синтезу оксиду азоту або поліамінів.

**Матеріал і методи.** Тварин із модельованим цирозом поділили на групи, яким вводили L-орнітину L-аспартат (LOLA) в дозі 200 мг/кг впродовж 10 діб; яким разом із LOLA 200 мг/кг вводили L-NAME в дозі 10 мг/кг впродовж 10 діб; яким разом із LOLA 200 мг/кг вводили та DFMO в дозі 25 мг/кг. Вивчали гістологічну структуру печінки при забарвленні гематоксилином та еозином та за ван Гізон – Вейгертом.

**Результати.** Встановлено, що застосування L-орнітину L-аспартату при експериментальному цирозі печінки зменшувало прояви дистрофічних та некротичних змін гепатоцитів та лімфогістіоцитарну інфільтрацію фіброзної строми. Поєднане застосування L-орнітину L-аспартату та неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME у тварин із CCL<sub>4</sub> цирозом супроводжувалось помірними структурними змінами у вигляді переважно дистрофічних змін гепатоцитів та помірним зменшенням фіброзних полів у паренхімі печінки. Застосування LOLA у поєднанні з інгібітором метаболізму поліамінів DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine у тварин із CCL<sub>4</sub> цирозом супроводжувалося вираженим набряком колагенової строми із значною лімфо-гістіоцитарною інфільтрацією та вираженими дистрофічно-некротичними змінами в гепатоцитах.

**Висновок.** За результатами проведених досліджень встановлено, що LOLA чинить прямий захисний вплив на печінку при експериментальному цирозі.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** цироз печінки; L-орнітину L-аспартат; L-NAME; DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine.

**ВСТУП.** Цироз печінки (ЦП) – хронічне прогресуюче захворювання печінки, яке морфологічно проявляється структурною перебудовою її паренхіми з вузликовою трансформацією та розвитком фіброзу внаслідок некрозу гепатоцитів, порушенням гемодинаміки з розвитком портальної гіпертензії та наростанням ознак печінкової недостатності. ЦП займає перше місце серед причин смертності від хвороб шлунково-кишкового тракту. Захворювання спричиняє значний тягар на систему охорони здоров'я, а поширеність ЦП становить 2–3 %, причому найчастіше трапляється у чоловіків віком старше 40 років [1].

L-орнітин-L-аспартат (LOLA) – сіль двох природних амінокислот орнітину та аспартату. На сьогодні основний механізм дії препарату пов'язують із детоксикацією аміаку через синтез сечовини в орнітиновому циклі. Разом з тим, амінокислоти орнітин та аспартат залучені в цілий ряд обмінних процесів в організмі, а орнітин є субстратом для циклу Кребса у перипортальних гепатоцитах. Комплекс цих двох амінокислот також бере участь у синтезі поліамінів, необхідних для синтезу ДНК і відновлення клітин, що регенерують печінку.

Відомо, що у патогенезі розвитку ЦП, а саме порушень системної гемодинаміки та розвитку метаболічних порушень, провідну роль відіграє система оксиду азоту, попередниками синтезу якого є амінокислоти аргінін та орнітин [2]. Вивчення ме-

ханізму дії лікарських засобів можливе за рахунок блокування їх метаболізму чи ефекту за допомогою фармакологічних модуляторів. Для блокування синтезу оксиду азоту з аргініну та орнітину можна використати блокатори ферменту синтази оксиду азоту (NOS). Задля вивчення ролі системи оксиду азоту в комплексному механізмі протективної дії LOLA при цирозі нами було вибрано речовину, яка здатна блокувати як ендотеліальну, так і індуцибельну форми ферменту N-нітро-L-аргінін метиловий ефір (L-NAME). З вивчення синтезу поліамінів у фармакологічній дії LOLA застосували незворотний інгібітор орнітин декарбоксилази D,L- $\alpha$ -Difluoromethylornithine (DFMO) [3].

**Мета** – встановлення морфологічних змін у печінці при експериментальному цирозі за введення LOLA у комбінації з модуляторами синтезу оксиду азоту або поліамінів.

Робота виконана в рамках науково-дослідної теми «Фармакологічне дослідження кардіо- та гастропротекторного впливу біотехнологічних, рослинних та синтетичних лікарських засобів (2019–2021 рр., № державної реєстрації 0119U000617).

**Матеріал і методи дослідження.** Експериментальні дослідження проведено на 30 білих щурах-самцях лінії Wistar масою 180–220 г. Тварин утримували в умовах акредитованого віварію згідно зі «Стандартними правилами по упорядкуванню, устаткуванню та утриманню експериментальних

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення біологічних клінік (віваріїв)». Тварини мали вільний доступ до води та їжі та стандартний раціон. Усі маніпуляції проводили у першій половині дня в спеціально відведеному приміщенні при температурі 18–22 °С, відносній вологості 40–60 % і освітленості 250 лк. Дослідження сплановано та проведено відповідно до наказу МОЗ України від 14 грудня 2009 р. № 944 «Про затвердження Порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів та експертизи матеріалів доклінічного вивчення лікарських засобів», Європейської конвенції про захист хребетних тварин та нормативних документів щодо використання лабораторних тварин для експериментальних та інших наукових цілей; загальних етичних принципів експериментів на тваринах, ухвалених Першим національним конгресом України з біоетики (вересень 2001 року) [5, 18].

Піддослідних тварин поділили на 5 експериментальних груп по 6 тварин в кожній. Смертності тварин не було. 1 група – контрольна (здорові тварини), лікувальні впливи 10 днів імітували шляхом еквівалентного введення фізіологічного розчину. 2 група – тварини, яким моделювали цироз шляхом парентерального введення 50 % олійного розчину тетрахлорметану в дозі 2 мл/кг маси тіла тварини протягом 12 тижнів (двічі на тиждень), лікувальні впливи 10 днів імітували шляхом еквівалентного введення фізіологічного розчину; 3 група – тварини із модельованим цирозом, яких лікували LOLA в дозі 200 мг/кг впродовж 10 діб після завершення моделювання, 4 група – тварини із цирозом, яким разом із LOLA в дозі 200 мг/кг вводили L-NAME в дозі 10 мг/кг впродовж 10 діб після завершення моделювання; 5 група – тварини із цирозом, яким разом із LOLA 200 мг/кг вводили DFMO в дозі 25 мг/кг. Усі коригуючі чинники вводили внутрішньоочередивно зранку один раз на добу. Доза LOLA, а саме 200 мг/кг для внутрішньоочере-

винного введення щуром, ґрунтується на перерахунку середньотерапевтичної дози для парентерального введення препарату пацієнтам з цирозом за методикою Ю. Р. Риболовлева та узгоджується із дозами, які використовували інші дослідники [5, 6]. Підбір доз неспецифічного блокатора синтезу оксиду азоту N-нітро-L-аргінін метиловий ефір (L-NAME; «Oldrich. Chem. Co.», Англія), який вводили по 10 мг/кг у вигляді 1%-го водного розчину [7] та інгібітора синтезу поліамінів D, L-α-Difluoromethylornithine (DFMO; «Cayman chemical») [3, 19] базувався на аналізі літератури. Після чого тварин умертвляли гуманним чином та видаляли печінку. З кожної печінки вирізали 2 – 3 шматочки для морфологічного аналізу та одразу фіксували у 10 % розчині формаліну. Процесинг тканини здійснювався в гістопроцесорі закритого вакуумного типу Logos ONE. Готовий матеріал заливали в парафінові блоки. Гістологічні зрізи готували на роторному мікротомі Amos AMR-400 товщиною 4–5 мкм (не менше двох зрізів на кожне гістологічне скло), забарвлювали гематоксиліном та еозинном та за ван Гізон – Вейгертом [9]. Дослідження мікропрепаратів та фотореєстрацію проводили за допомогою мікроскопа Eclipse Ci-E (Японія) з цифровою фотокамерою Sigeta M3CMOS 14000 при різних збільшеннях: ×100, ×200, ×400.

**Результати й обговорення.** Гістологічне дослідження печінки дослідних тварин із модельованим цирозом виявило, що структура часточок пошкоджувалась. Привертає увагу перебудова у вигляді формування в паренхімі значних полів фіброзу із вираженою лімфогістіоцитарною інфільтрацією (рис. 1, 2). Поряд із цим у колагеновій стромі візуалізувались дрібні повнокровні судини та помірний периваскулярний набряк, які поглиблювали гіпоксичний вплив на структуру печінки. Мікроскопічно структура класичних печінкових часточ-

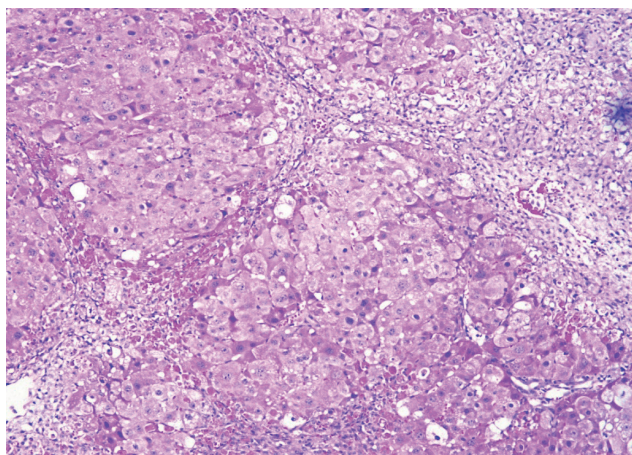


Рис. 1. Структура печінки при експериментальному CCL<sub>4</sub> цирозі. Формування вузлів регенерації. Забарвлення гематоксиліном та еозинном. × 200.

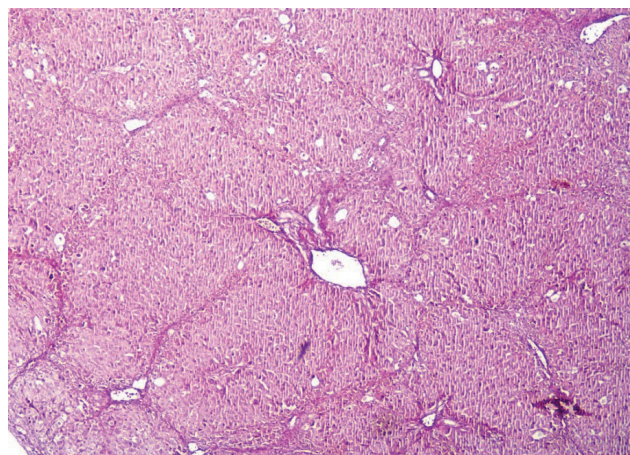


Рис. 2. Структура печінки при експериментальному CCL<sub>4</sub> цирозі. Збільшення кількості колагенової стромі у паренхімі. Забарвлення за Вейгертом та ван Гізона. × 100.



Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення чок порушувалась. В окремих із них не візуалізувались центральні вени та синусоїди, спостерігалось нагромадження гепатоцитів у вигляді вузлів регенерації (рис. 1). Значна частина клітин зазнала виражених дистрофічних та некротичних змін із різною поширеністю. Печінкові пластинки дисконкомплексовані. Гепатоцити в них – різних розмірів з розмитими лініями клітинних мембран, часто локалізовані окремо від суцільної пластинки.

Цитоплазма гепатоцитів слабо структурована, гіпохромна, часто зерниста, містить дрібні вакуолі. Багато гепатоцитів мають збережену форму, але не містять ядро. У деяких гепатоцитах ядра фрагментовані, подекуди клітини містили тільки фрагменти ядер, не зв'язані один з одним, наявні темні гепатоцити. У портальних зонах візуалізувалась лімфоцитарна інфільтрація, із посиленою гіперплазією фібробластів та збільшенням кількості колагенових волокон у пухкій сполучній тканині. У перилобулярній та міжлобулярній зонах класичних печінкових часточок наявні гіпертрофовані фібро-

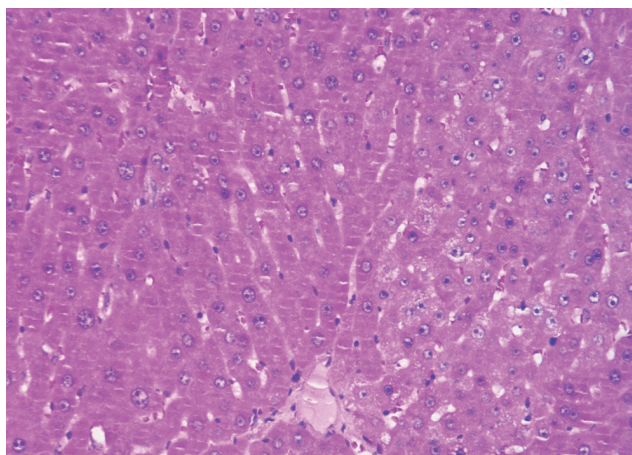


Рис. 3. Структура печінки при експериментальному  $\text{CCl}_4$  цирозі та при корекції LOLA. Часткове відновлення балкової організації, зменшення дистрофічно-некротичних проявів. Забарвлення гематоксиліном та еозином.  $\times 200$ .

Застосування внутрішньоочеревинного введення LOLA у комбінації L-NAME протягом 10 діб у тварин із модельованим цирозом проявлялось наступними структурними змінами. В ділянках сформованого склерозу візуалізувались прояви мукоїдного набряку колагенових волокон, поряд із цим спостерігалась помірна лімфогістіоцитарна інфільтрація, особливо навколо розширених та повнокровних судин портальних трактів (рис. 5, 6). Помірний периваскулярний набряк поширювався переважно по стромі. Балкова організація гепатоцитів залишалась збереженою переважно в перипортальних ділянках збережених часточок, у вузлах регенерації спостерігалось хаотичне нагрома-

бласти та пучки колагенових волокон, некротизовані гепатоцити замикаючої пластинки часточки, численні гепатоцити з пікнотичними ядрами.

Гістологічне дослідження печінки дослідних тварин із модельованим цирозом та корекцією LOLA протягом 10 діб виявило часткове, проте суттєве відновлення структури органа. Будова часточок дещо відновлювалась, зменшувалась площа фіброзних полів, значно зменшувалась лімфо- та гістіоцитарна інфільтрація, особливо перипортальних полів. Кількість псевдочасточок залишалась незмінною, проте у збережених часточках значно відновлювалась балкова організація гепатоцитів, зменшувались прояви білкової дистрофії гепатоцитів, відповідно і некротичних проявів (рис. 3). В окремих часточках візуалізувались помірно розширені та повнокровні центральні вени та дещо повнокровні синусоїди. Портальні поля містили значну частину колагенових волокон (рис. 4), проте спостерігалось зменшення периваскулярного набряку.

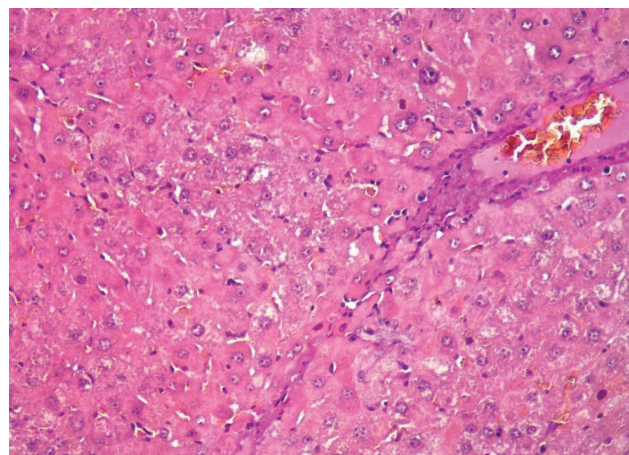


Рис. 4. Структура печінки при експериментальному  $\text{CCl}_4$  цирозі та при корекції LOLA. Зменшення кількості колагенових волокон. Забарвлення за Вейгертом та ван Гізон.  $\times 100$ .

дження клітин. Центральні вени залишались частково розширеними та повнокровними, візуалізувались ділянки значних дистрофічних проявів у гепатоцитах централобулярних зон. У середній третині часточок цитоплазма клітин була зернистою, неоднорідною, міжклітинні контакти частково втрачались, ядра просвітлювались.

При використанні внутрішньоочеревинного введення LOLA у дозі 200 мг/кг протягом 10 діб та DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine в дозі 25 мг/кг ми виявили такі структурні прояви в печінці. В ділянках сформованої сполучної тканини зберігався виражений фіброз (рис. 7) у поєднанні із ущільненням стінки судин. Судини портальних трактів залиша-



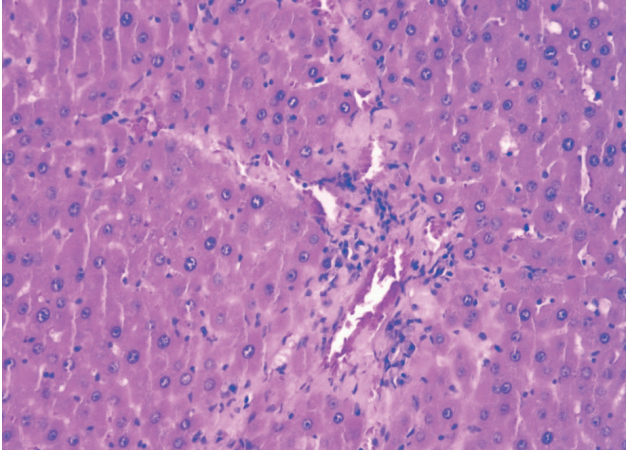


Рис. 5. Структура печінки при експериментальному  $\text{CCl}_4$  цирозі та на фоні LOLA у дозі 200 мг/кг протягом 10 діб та L-NAME в дозі 10 мг/кг. Мукоїдний набряк колагенової стромы. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 200$ .

лись незначно розширеними та повнокровними. Спостерігався також помірний периваскулярний набряк, який у поєднанні із лімфогістіоцитарною інфільтрацією поширювався на строму. Найбільш збереженими виявились незначна частина гепатоцитів перипортальних трактів. Серед помірно змінених клітин візуалізувались поодинокі гепатоцити із посиленою регенераторною активністю.

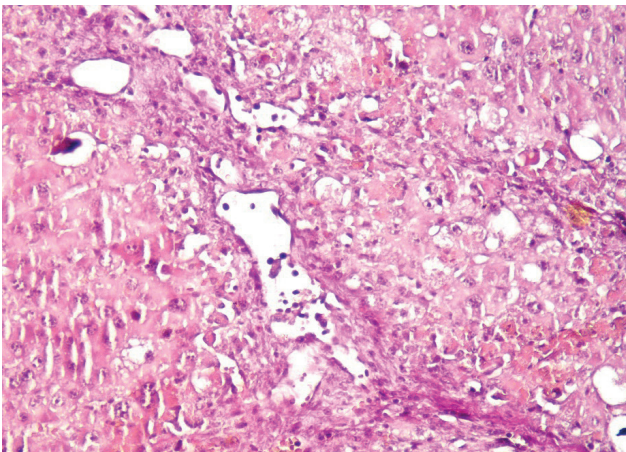


Рис. 7. Структура печінки при експериментальному  $\text{CCl}_4$  цирозі та при застосуванні комбінації LOLA (200 мг/кг) та DFMO (25 мг/кг) протягом 10 діб. Значна кількість фіброзної стромы, ущільнення стінки судин. Забарвлення за Вейгертом та ван Гізона.  $\times 200$ .

Наші попередні дослідження показали, що циротичне ураження печінки у щурів може бути експериментально відтворено при повторному введенні чотирехлористого вуглецю впродовж трьох місяців [10]. Це дослідження гістологічно підтвердило формування цирозу за такої експе-

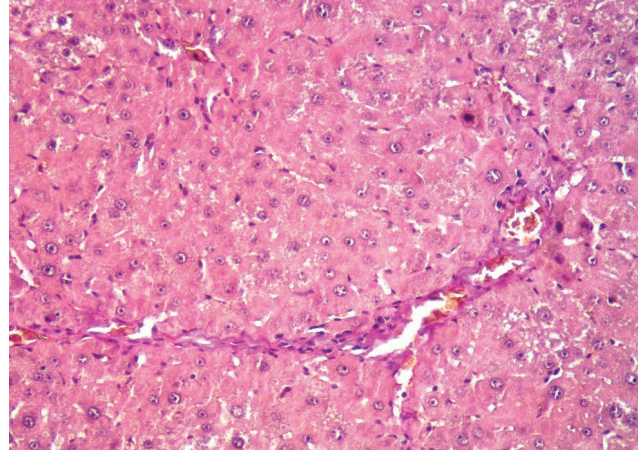


Рис. 6. Структура печінки при експериментальному  $\text{CCl}_4$  цирозі та на фоні LOLA у дозі 200 мг/кг протягом 10 діб та L-NAME в дозі 10 мг/кг. Помірна кількість колагенових волокон, незначна клітинна інфільтрація. Забарвлення за Вейгертом та ван Гізона.  $\times 200$ .

риальної моделі, а саме дистрофічні зміни в гепатоцитах, порушення регенерації, виражений фіброз та формування псевдоочащочок.

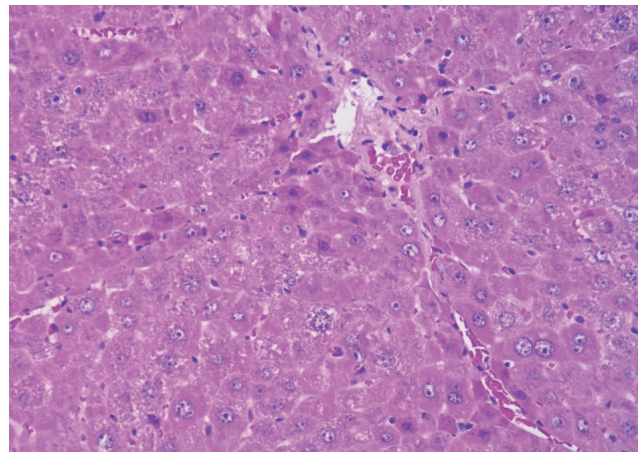


Рис. 8. Структура печінки при експериментальному  $\text{CCl}_4$  цирозі та при застосуванні комбінації LOLA (200 мг/кг) та DFMO (25 мг/кг) протягом 10 діб. Виражені дистрофічно-некротичні прояви гепатоцитів центральної часточки, ділянки посиленої регенерації в перипортальних зонах. Забарвлення гематоксилином та еозином.  $\times 200$ .

риментальної моделі, а саме дистрофічні зміни в гепатоцитах, порушення регенерації, виражений фіброз та формування псевдоочащочок.

L-орнітин-L-аспартат (LOLA) – це сіль двох природних амінокислот – орнітин та аспартат, які є в організмі людини. Кожна амінокислота включа-

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення

ється як у загальні, так і в специфічні для кожної амінокислоти метаболічні шляхи. Орнітин є субстратом для циклу Кребса, у 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 і трансформування 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 [11, 17]. Комплекс цих двох амінокислот відіграє ключову роль у детоксикації аміаку, а також у синтезі поліамінів, необхідних для синтезу ДНК і відновлення клітин, що регенерують печінку. Експериментальні та клінічні дослідження показали ефективність застосування LOLA при цирозі печінки [12, 16]. Результати проведених нами досліджень на морфологічному рівні надали підтвердження гепатопротекторної дії препарату. Ми встановили зменшення кількості дистрофічно змінених гепатоцитів, зменшення площі полів фіброзу із лімфогістіоцитарною інфільтрацією строми, посилену регенерацію гепатоцитів у ділянках портальних трактів.

Ще в 1991 році Valance and Moncada висловили припущення, що NO може бути відповідальним за гіпердинамічні зміни при ураженнях печінки. Згідно з їх гіпотезою, гіперпродукція NO при ЦП пов'язана зі зростаннями ендотоксемії, що прямо або опосередковано через систему цитокінів стимулює синтез оксиду азоту. Разом з тим, інші дослідження вказують на зниження синтезу NO та зниження активності конститутивної NO-синтази (NOS) при ЦП [13, 14].

N-нітро-L-аргінін метиловий ефір L-NAME. Завдяки своїй ліпофільній структурі він добре проникає через мембрани. Усередині клітини L-NAME, який є проліками, зазнає деестерифікації і стає еквівалентом L-нітро-L-аргініну, потужного інгібітора всіх ізоформ NOS із преференцією до cNOS [15]. Неселективність його дії забезпечує пригнічення як фізіологічного метаболізму L-аргініну-NO, який забезпечується ендотеліальною NOS, так і цитокініндукованого синтезу оксиду азоту за рахунок пригнічення індукцибельної NOS.

Наші дослідження показали, що блокування NO-залежного механізму дії LOLA морфологічно призводить до прогресування дистрофічно-некротичних змін у гепатоцитах. Орнітин і аспартат унаслідок їх метаболічних перетворень підвищують вміст ряду амінокислот, необхідних для синтезу білка: аспартату, глутаміну, глутамату, пролі-

ну, аланіну, аспарагіну, треоніну, метіоніну тощо, збільшують біосинтез нуклеїнових кислот. Складні метаболічні шляхи аспартату призводять до збільшення продукування нуклеїнових кислот (РНК та ДНК). Унаслідок цього підвищується білковосинтезувальна функція печінки.

Поліаміни – важливий чинник у процесах проліферації клітин. Попередником їх синтезу є аргінін, з якого, за участі аргінази, утворюється орнітин, з орнітину – під дією орнітиндекарбоксілази (ОДК) – путресцин, і надалі, із залученням відповідних ферментів, – інші поліаміни. Наявність специфічних інгібіторів ОДК дозволила встановити істотну роль поліамінів у багатьох процесах, включаючи ріст клітин, диференціювання, клітинну адгезію, індукцію апоптозу і передачу сигналу [16]  $\alpha$ -DFMO (Альфа-дифторметилорнітин), який є незворотним інгібітором ОДК. Показано, що DFMO інгібує утворення фіброblastів. Комбіноване застосування DFMO та LOLA дозволить з'ясувати, чи пов'язаний механізм дії останнього із синтезом поліамінів [17]. Нами було встановлено виражені дистрофічно-некротичні зміни гепатоцитів, збільшення площі колагенової строми із посиленою лімфогістіоцитарною інфільтрацією та набряком, збільшення площі фіброзних полів.

Отже, дослідження показали, що в гепатопротективній дії LOLA при експериментальному цирозі вагому роль відіграє вплив препарату на систему оксиду азоту та синтез поліамінів.

**Висновки.** 1. Застосування L-орнітину L-аспартату при експериментальному цирозі печінки зменшувало прояви дистрофічних та некротичних змін гепатоцитів та зменшувало лімфогістіоцитарну інфільтрацію фіброзної строми.

2. Поєднане застосування L-орнітину L-аспартату та неселективного блокатора синтезу оксиду азоту L-NAME у тварин із CCL<sub>4</sub> цирозом супроводжувалось помірними структурними змінами у вигляді переважно дистрофічних змін гепатоцитів та помірним зменшенням фіброзних полів у паренхімі печінки.

3. Застосування LOLA у поєднанні з інгібітором метаболізму поліамінів DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine у тварин із CCL<sub>4</sub> цирозом проявлялось вираженим набряком колагенової строми із значною лімфогістіоцитарною інфільтрацією та вираженими дистрофічно-некротичними змінами в гепатоцитах.

**Перспективи подальших досліджень.** Плануємо застосувати імуногістохімічні дослідження для глибокого вивчення структурних проявів у печінці при експериментальному цирозі та вплив LOLA на морфофункціональні зміни в гепатоцитах.



ЛІТЕРАТУРА

1. Денисюк В. І. Цироз печінки: стандарти діагностики та лікування з урахуванням рекомендацій доказової медицини / В. І. Денисюк, О. В. Денисюк, Е. С. Осядла // *Гострі та невідкладні стани у практиці лікаря*. – 2012. – № 2–3 (31). – С. 73–81.
2. Butterworth R. F. L-орнітину-L-аспартат як гепатопротектор при неалкогольній жировій хворобі печінки / R. F. Butterworth // *Здоров'я України*. – 2019. – № 3 (53). – С. 30–31. – URL: <https://health-ua.com/article/43854-LorntinuLaspartat-yakgepatoprotektor-pri-nealkogolnj-zhirov-jhvorb-pechnki>.
3. Tumorangiogenesis and polyamines:  $\alpha$ -Difluoromethylornithine, an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase, inhibits B16 melanoma-induced angiogenesis in ovo and the proliferation of vascular endothelial cell in vitro / M. Takigawa, M. Enomoto, Y. Nishida [et al.] // *Cancer Res.* – 2014. – Vol. 50 (13). – P. 4131–4138.
4. Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, що виконуються на тваринах: методичні рекомендації / О. Г. Резніков, А. І. Соловйов, Н. В. Добреля, О. В. Стефанов // *Вісник фармакології та фармації*. – 2006. – № 7. – С. 47–61.
5. Рыболовлев Ю. Р. Дозирование веществ для млекопитающих по константам биологической активности / Ю. Р. Рыболовлев, Р. С. Рыболовлев // *Доклады АН СССР*. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
6. Effect of L-ornithine L-aspartate against thioacetamide-induced hepatic damage in rats / A. K. Najmi, K. K. Pillai, S. N. Pal [et al.] // *Pharmacol. Indian J.* – 2010. – Vol. 42 (6). – P. 384–387.
7. Олещук О. М. Вплив модуляторів синтезу оксиду азоту на біохімічні показники функціонального стану печінки щурів / О. М. Олещук // *Фізіол. журн.* – 2014. – Т. 60, № 2. – С. 57–62.
8. Яніш Ю. В. Вплив модуляторів метаболізму аргініну і поліамінів на активність аргінази та продукцію оксидів азоту клітинами асцитного раку Ерліха in vivo / Ю. В. Яніш, А. Б. Артамонова, С. П. Залеток // *Клиническая онкология*. – 2016. – № 3. – С. 89–91. – URL: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/klonok-2016\\_3-23](http://nbuv.gov.ua/UJRN/klonok-2016_3-23).
9. Методики морфологічних досліджень: монографія / М. М. Багрій, В. А. Діброва, О. Г. Попадинець, М. І. Гришук; за ред. М. М. Багрія, В. А. Діброви. – Вінниця: Нова книга, 2016. – 328 с.
10. Experimental cirrhosis: liver morphology and function / V. A. Datsko, L. Ya. Fedoniuk, Ya. I. Ivankiv [et al.] // *Wiad. Lek.* – 2020. – Vol. 73 (5). – P. 947–952.
11. Ткач С. М. L-орнітин-L-аспартат как универсальный гепатопротектор-детоксикант с плейотропными эффектами / С. М. Ткач // *Здоров'я України*. – 2013. – № 3. – С. 60–61.
12. Therapeutic effect of L-ornithine-L-aspartate on liver cirrhosis complicated by hepatic encephalopathy / M. F. Chen, R. C. Li, C. H. Chen, X. C. Gao // *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*. – 2005. – Vol. 25 (6). – P. 718–719.
13. Antioxidant capacity and nitric oxide in patients with hepatic cirrhosis / M. Koruk, H. Aksoy, F. Akçay, M. D. Onuk // *Ann. Clin. Lab. Sci.* – 2002. – Vol. 32 (3). – P. 252–256.
14. Hepatic and splanchnic nitric oxide activity in patients with cirrhosis / A. I. Sarela, F. M. Mihaimeed, J. J. Batten [et al.] // *Gut*. – 1999. – Vol. 44 (9). – P. 749–753.
15. Arginine-based inhibitors of nitric oxide synthase: therapeutic potential and challenges / J. Viteček, A. Lojek, G. Valacchi, L. Kubala // *Mediators Inflamm.* – 2012. – Vol. 2012. – P. 318087. – URL: <https://doi.org/10.1155/2012/318087>.
16. Fuller D. J. Delayed sensitization to heat by inhibitors of polyamine-biosynthetic enzymes / D. J. Fuller, E. W. Gerner // *Cancer Res.* – 1982. – Vol. 42 (12). – P. 5046–5049.
17. Kircheis G. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) in Hepatic Encephalopathy / G. Kircheis, S. Lüth // *Drugs*. – 2019. – Vol. 79 (Suppl. 1). – P. S23–S29. – URL: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1023-2>.
18. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986: Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи) [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?Find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0%F0%E8%ED&x=10&y=5>
19. Verma A. K. Inhibition of tumor promotion by dl- $\alpha$ -difluoromethylornithine, specific irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase / A. K. Verma // *Basic Life Sci.* – 1990. – Vol. 52. – P. 195–204. DOI: 10.1007/978-1-4615-9561-8\_16.

REFERENCES

1. Denysyuk, V.I., Denysyuk, O.V., & Osyadla, E.S. (2012). Tsyroz pechinky: standarty diahnostryky ta likuvannia z urakhuvanniam rekomendatsii dokazovoi medytsyny [Cirrhosis of the liver: standards of diagnosis and treatment taking into account the recommendations of evidence-based medicine]. *Hostri ta nevidkladni stany u praktytsi likaria – Acute and Urgent Conditions in the Practice of Medicine*, 2-3 (31), 73-81 [in Ukrainian].
2. Butterworth, R.F. (2019). L-ornitynu-L-aspartat yak hepatoprotektor pry nealkoholnij zhyrovij khvorobi pechinky [L-ornithine-L-aspartate as a hepatoprotector in non-alcoholic fatty liver disease]. *Zdorovia Ukrainy – Health of Ukraine*, 3(53), 30-31. Retrieved from: <https://health-ua.com/article/43854-LorntinuLaspartat-yakgepatoprotektor-pri-nealkogolnj-zhirov-jhvorb-pechnki>
3. Takigawa, M., Enomoto, M., Nishida, Y., Pan, H.O., Kinoshita, A., & Suzuki, F. (2014). Tumorangiogenesis and polyamines:  $\alpha$ -Difluoromethylornithine, an irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase, inhibits B16 melanoma-induced angiogenesis in ovo and the proliferation of vascular endothelial cell in vitro. *Cancer Res.*, 50 (13), 4131-4138.
4. Reznikov, O.H., Solovyov, A.I., Dobrеля, N.V., & Stefanov, O.V. (2006). Bioetichna ekspertyza doklinichnykh ta inshykh naukovykh doslidzhen, shcho vykonuiutsia

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення на tvarynakh. Metodichni rekomendatsii [Bioethical examination of preclinical and other scientific research performed on animals. Methodical recommendations]. *Visnyk farmakologii ta farmatsii – Bulletin of Pharmacology and Pharmacy*, 7, 47-61 [in Ukrainian].

5. Rybolovlev, Yu.R., & Rybolovlev, R.S. (1979). Dozirovaniye veshchestv dlya mlekoopitayushchikh po konstantam biologicheskoy aktivnosti [Dosing of substances for mammals according to the constants of biological activity]. *Doklady AN SSSR – Reports of the USSR Academy of Sciences*, 247, 6, 1513-1516 [in Russian].

6. Najmi, A.K., Pillai, K.K., Pal, S.N., Akhtar, M., Aqil, M., & Sharma, M. (2010). Effect of L-ornithine L-aspartate against thioacetamide-induced hepatic damage in rats. *Pharmacol. Indian J.*, 42(6), 384-387. DOI: 10.4103/0253-7613.71926

7. Oleshchuk, O.M. (2014). Vplyv modulatoriv syntezy oksydu azotu na biokhimichni pokaznyky funktsionalnoho stanu pechinky shchuriv [Influence of nitric oxide synthesis modulators on biochemical parameters of the functional state of the liver of rats]. *Fiziol. zhurn. – Physiol. Magazine*, 60, 2, 57-62 [in Ukrainian].

8. Yanish, Yu.V., Artamonova, A.B., & Zalyetok, S.P. (2016). Vplyv modulatoriv metabolizmu arhininu i poliaminiv na aktyvnist arhinazy ta produktsiiu oksydid azotu klitynamy astsytnoho raku Erlikha *in vivo* [Influence of modulators of arginine and polyamine metabolism on arginase activity and production of nitrogen oxides by Ehrlich ascites cancer cells *in vivo*]. *Klynycheskaya onkologiya – Clinical Oncology*, 3, 89-91. Retrieved from: <http://nbuv.gov.ua/UJRN/clinonk-2016.3-23>

9. Bahrii, M.M., Dibrova, V.A., Popadynets, O.H., & Hryshchuk, M.I. (2016). *Metodyky morfolohichnykh doslidzhen: monohrafiia [Methods of morphological research: monograph]*. Vinnytsia: Nova knyha [in Ukrainian].

10. Datsko, V.A., Fedoniuk, L.Y., Ivankiv, Y.I., Kurylo, K.I., Volska, A.S., Malanchuk, S.L., & Oleshchuk, O.M. (2020). Experimental cirrhosis: liver morphology and function. *Wiad. Lek.*, 73(5), 947-952.

11. Tkach, S.M. (2013). L-ornitin-L-aspartat kak univernalnyy gepatoprotektor-detoksikant s pleyotropnymi effek-

tami [L-ornithine-L-aspartate as a universal hepatoprotector-detoxifier with pleiotropic effects]. *Zdorovia Ukrainy – Health of Ukraine*, 3. 60-61 [in Russian].

12. Chen, M.F., Li, R.C., Chen, C.H., & Gao, X.C. (2005). Therapeutic effect of L-ornithine-L-aspartate on liver cirrhosis complicated by hepatic encephalopathy. *Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao*, 25(6), 718-719.

13. Koruk, M., Aksoy, H., Akçay, F., & Onuk, M.D. (2002). Antioxidant capacity and nitric oxide in patients with hepatic cirrhosis. *Ann. Clin. Lab. Sci.*, 32(3), 252-256.

14. Sarela, A.I., Mihaimeed, F.M., Batten, J.J., Davidson, B.R., & Mathie, R.T. (1999). Hepatic and splanchnic nitric oxide activity in patients with cirrhosis. *Gut*, 44(9), 749-753.

15. Víteček, J., Lojek, A., Valacchi, G., & Kubala, L. (2012). Arginine-based inhibitors of nitric oxide synthase: therapeutic potential and challenges. *Mediators Inflamm.*, 2012, 318087. DOI: <https://doi.org/10.1155/2012/318087>

16. Fuller, D.J., & Gerner E.W. (1982). Delayed sensitization to heat by inhibitors of polyamine-biosynthetic enzymes. *Cancer Res.*, 42(12), 5046-5049.

17. Kircheis, G., & Lüth, S. (2019). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Properties of L-Ornithine L-Aspartate (LOLA) in Hepatic Encephalopathy. *Drugs*, 79(Suppl. 1), S23-S29. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-018-1023-2>

18. Yevropeiska konventsiiia pro zakhyst khrebetnykh tvaryn, shcho vykorystovuiutsia dlia doslidnytskykh abo inshykh naukovykh tsilei vid 18.03.1986 [European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Research or Other Scientific Purposes of 18 March 1986]. *Verkhovna Rada Ukrainy, ofitsiyni veb-portal: Mizhnarodni dokumenty (Rada Yevropy) – Verkhovna Rada of Ukraine, official web portal: International documents (Council of Europe)*. Retrieved from: <http://zakon4.rada.gov.ua/laws/main?Find=1&sp=i&user=c393&text=%F2%E2%E0%F0%E8%ED&x=10&y=5> [in Ukrainian].

19. Verma, A.K. (1990). Inhibition of tumor promotion by dl- $\alpha$ -difluoromethylornithine, specific irreversible inhibitor of ornithine decarboxylase. *Basic Life Sci.*, 52, 195-204. DOI: 10.1007/978-1-4615-9561-8\_16

## МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ПОДТВЕРЖДЕНИЕ МЕХАНИЗМОВ ПРОТЕКТИВНОГО ДЕЙСТВИЯ L-ОРНИТИНА L-АСПАРТАТА ПРИ ЦИРРОЗЕ ПЕЧЕНИ

©В. А. Дацко, О. М. Олещук, Т. В. Дацко, Т. К. Головата

Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины

**РЕЗЮМЕ.** Хронический гепатит В или С, алкогольный гепатит, диабет, ожирение, хронические заболевания желчевыводящих путей, аутоиммунные заболевания и др. – заболевания, которые могут осложняться циррозом печени. Эта патология занимает первое место среди причин смерти от болезней желудочно-кишечного тракта.

**Цель** – установление морфологических изменений в печени при экспериментальном циррозе при введении LOLA в сочетании с модуляторами синтеза оксида азота или полиаминов.

**Материал и методы.** Животных с экспериментальным циррозом печени поделили на группы, которым вводили L-орнитин L-аспартат (LOLA) в дозе 200 мг/кг в течение 10 суток; которым вместе с LOLA 200 мг/кг вводили L-NAME в дозе 10 мг/кг в течение 10 суток; которым вместе с LOLA 200 мг/кг вводили и DFMO в дозе 25 мг/кг. Изучали гистологическую структуру печени при окраске гематоксилином и эозином и по Ван Гизон – Вейгерту.

**Результаты.** Установлено, что применение L-орнитина L-аспартата при экспериментальном циррозе печени уменьшало проявления дистрофических и некротических изменений гепатоцитов и уменьшало лимфогистиоцитарную инфильтрацию фиброзной стромы. Сочетанное применение L-орнитина L-аспартата и неселективного

Огляди літератури, **оригінальні дослідження**, погляд на проблему, випадок з практики, короткі повідомлення  
блокатора синтеза оксида азота L-NAME у животнох с CCL<sub>4</sub> циррозом супроводжалося умереними структурними змінами в формі переважно дистрофічних змін гепатоцитів і умереним зменшенням фіброзних полів в паренхимі печини. Застосування LOLA в поєднанні з інгібітором метаболізму поліамінов DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine у животнох с CCL<sub>4</sub> циррозом проявлялося вираженим отеком колагенової стромы со значительной лимфогистиоцитарной інфільтрацією і вираженими дистрофічними і некротическими змінами в гепатоцитах.

**Выводы.** По результатам проведених досліджень встановлено, що LOLA оказує пряме захисне впливання на печінку при експериментальному циррози.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** цирроз печини; L-орнитина L-аспартат; L-NAME; DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine.

## MORPHOLOGICAL CONFIRMATION OF MECHANISMS OF PROTECTIVE ACTION OF L-ORNITHINE L-ASPARTATE IN LIVER CIRRHOSIS

©V. A. Datsko, O. M. Oleshchuk, T. V. Datsko, T. K. Holovata

*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University*

**SUMMARY.** Chronic hepatitis B or C, alcoholic hepatitis, diabetes, obesity, chronic diseases of the biliary tract, autoimmune diseases, etc. – diseases that can be complicated by liver cirrhosis. This pathology ranks first among the causes of death from diseases of the gastrointestinal tract.

**The aim** – to establish morphological changes in the liver in experimental cirrhosis with the administration of L-ornithine-L-aspartate (LOLA) in combination with modulators of nitric oxide or polyamine synthesis.

**Material and Methods.** Animals with simulated cirrhosis were divided into groups administered LOLA at a dose of 200 mg/kg for 10 days; who together with LOLA 200 mg/kg was administered L-NAME at a dose of 10 mg/kg for 10 days; which together with LOLA 200 mg/kg was administered and DFMO at a dose of 25 mg/kg. The histological structure of the liver was studied by staining with hematoxylin and eosin and Van Gizon-Weigert.

**Results.** Was found that the use of L-ornithine L-aspartate in experimental liver cirrhosis reduced the manifestations of dystrophic and necrotic changes in hepatocytes and reduced lymphohistiocytic infiltration of the fibrous stroma. The combined use of L-ornithine L-aspartate and a non-selective blocker of nitric oxide synthesis L-NAME in animals with CCL<sub>4</sub> cirrhosis was accompanied by moderate structural changes in the form of predominantly dystrophic hepatocyte changes and a moderate decrease in fibrous fields in the liver parenchyma. The use of LOLA in combination with the inhibitor of DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine polyamine metabolism in animals with CCL<sub>4</sub> cirrhosis was manifested by severe collagen stroma edema with significant lymphohistiocytic infiltration and pronounced dystrophic-necrotic changes in the liver.

**Conclusions.** Studies have shown that LOLA has a direct protective effect on the liver in experimental cirrhosis.

**KEY WORDS:** liver cirrhosis; L-ornithine L-aspartate; L-NAME; DL- $\alpha$ -Difluoromethylornithine.

Отримано 01.04.2021