

Міністерство охорони здоров'я України
Тернопільський державний медичний університет
імені І.Я. Горбачевського

КАЧМАРСЬКА МАРТА ОЛЕГІВНА

УДК: 616-092.19-008.61:(616.13/.16-018.74+616.155.33)

НО-ЗАЛЕЖНІ ПРОЦЕСИ В ПЕЧІНЦІ ТА ЇХ ЗВ'ЯЗОК
З МОНОЦИТАРНО-ЕНДОТЕЛІАЛЬНИМИ АСОЦІАЦІЯМИ
ПРИ ХРОНІЧНІЙ ГІПЕРІМУНОКОМПЛЕКСЕМІЇ

14.03.04 – Патологічна фізіологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата медичних наук

Тернопіль – 2005

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Львівському національному медичному університеті
імені Данила Галицького МОЗ України

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор **Бідюк Мартин Миколайович**,
Львівський національний медичний університет імені Данила
Галицького МОЗ України, завідувач кафедри патологічної фізіології.

Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, професор **Гоженко Анатолій Іванович**, Одеський державний медичний
університет МОЗ України, завідувач кафедри загальної і клінічної патофізіології

доктор медичних наук, старший науковий співробітник **Коляда Тетяна Іванівна**, Харківський
науково-дослідний інститут мікробіології та імунології імені І.І.Мечнікова АМН України,
завідувач відділу імунології

Провідна установа: Інститут фізіології імені О.О.Богомольця НАН України (відділ імунології та
цитотоксичних сироваток), м.Київ

Захист відбудеться 30 вересня 2005 р. о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради
Д 58.601.01 у Тернопільському державному медичному університеті імені І.Я. Горбачевського
МОЗ України (46001, м. Тернопіль, Майдан Волі, 1)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Тернопільського державного медичного
університету ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України (46001, м. Тернопіль, вул. Руська, 12)

Автореферат розісланий 27 серпня 2005 р.

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради
доктор медичних наук, професор

Я.Я.Боднар

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В умовах сьогоденішньої гіпералергізації населення і дедалі ширшого розповсюдження аутоімуних захворювань, одним із важливих і мало досліджених аспектів сучасної імунопатології та алергології є вивчення імунокомплексного ураження організму. На даний час вивчення хвороб, в основі розвитку яких лежить патогенна дія імуних комплексів, привертає увагу багатьох дослідників. Показано роль імуних комплексів і нейтрофілів у формуванні судинно-запальних процесів, їх участь в пошкодженні ендотеліальних клітин (Wilson C., Dixon F., 1976; Бідюк М. та ін., 1997; Возіанова Ж.І. та ін., 2000; Shushakova N. et al., 2002; Goedvolk C.A. et al., 2003; Kari J.A., 2003; Nakajama A. et al., 2003; Suzuki Y. et al., 2003). Взаємодія клітин крові і судинної стінки є початковим і дуже важливим фактором розвитку патологічних процесів, в основі яких лежать імунокомплексні механізми, (Ройт А., Бростофф Дж. Мейл Д., 2000; Долгих В.Т., 2001) і активну роль при цьому відіграє система оксиду азоту і циклічних нуклеотидів (Коцюруба А.В. та ін., 2000).

Важливим фактором елімінації циркулюючих імуних комплексів є фагоцитоз, коли імунні комплекси, активуючи комплемент, приєднують компоненти комплементу і фагоцитуються мононуклеарними клітинами (Дранник Г.Н., 1999, Ройт А., Бростофф Дж. Мейл Д., 2000). Одним з основних ефекторних органів мононуклеарної системи, яка захоплює і елімінує імунні комплекси, є печінка (Ройт А., Бростофф Дж. Мейл Д., 2000). Враховуючи те, що печінка є кліренсним органом і має досить розвинену судинну сітку, то питання впливу хронічної гіперімунокомплексемії на її морфофункціональний стан є важливим. Особливу увагу при вивченні цього питання привертає обмін L-аргініну, а саме NO-залежні механізми його метаболізму, оскільки оксид азоту є активатором фагоцитозу (Виноградов Н.А., 1998; Бондаренко В.М. та ін., 1999; Гоженко А.И. и др., 2001; Братусь В.В., 2003; Bogdan C., 1997). На сьогодні відомо, що молекула оксиду азоту володіє широким спектром біорегуляторної дії і опосередковує такі фундаментальні процеси організму, як міжклітинна комунікація, нейротрансмісія, вазодилатація (Мальшев И.Ю., 1997; Манухина Е.Б., Мальшев И.Ю., 2000; Реутов В.П., 2000; Krukoff T.L., 1999; Alderton W.K. et al., 2001). В той же час роль циркулюючих імуних комплексів в порушенні NO-синтазних процесів печінки і механізми взаємозв'язку цих порушень з активністю моноцитів і ендотеліоцитів не досліджені.

Незважаючи на наукові розробки, які ведуться в цьому плані, роль первинних циркулюючих імуних комплексів у порушенні NO-синтазних процесів печінки, а також механізми взаємозв'язку цих порушень з функціональною активністю моноцитів та ендотеліоцитів не вивчені. Проблема патогенетичної імунокорекції та профілактики розвитку імунокомплексних захворювань ще далека від задовільного вирішення. Це пояснюється складністю та недостатньо

вивченими механізмами імунокомплексних процесів. В цьому плані інтерес викликає кверцетин – біофлавоноїд, який володіє протизапальним, антиоксидантним, імуномодулюючим, спазмолітичним, вазодилататорним, анаболічним, антиоксичним, протівірусним ефектами (Ковалев В.Б. и др., 1999; Вередина Е.Г., 2001; Мойбенко О.О. та ін., 2003; Тутельян В.А. и др., 2003; Ananth Sekher Pannala et al., 2001).

Таким чином, вивчення гепато-моноцитарно-ендотеліальних асоціацій NO-залежних процесів за умов хронічної гіперімунокомплексемії і можливих шляхів їх фармакокорекції і заслуговує експериментальних і клінічних розробок.

Зв'язок роботи з програмами, планами, темами: Дисертаційна робота є фрагментом планової наукової міжкафедральної теми “Імуно-нейтрофільно-ендотеліально-епітеліально залежні механізми в розвитку гіперімунокомплексного синдрому в експерименті і клініці та підходи до їх корекції”, яка виконується на кафедрах патологічної фізіології та клінічної імунології і алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (№ державної реєстрації 0101U00933), у ході виконання якої автором самостійно проведені дослідження ролі NO-залежних механізмів печінки, моноцитів та ендотеліоцитів у розвитку хронічної гіперімунокомплексемії на моделі хронічної сироваткової хвороби та вивчення впливу на ці механізми парентеральної форми кверцетину – корвітину. В цих же умовах експерименту вивчено електронно-мікроскопічні зміни у тканині печінки, моноцитах і ендотеліоцитах і досліджено можливість корекції виявлених функціонально-морфологічних порушень корвітином. Тема дисертації затверджена Проблемною комісією “Патологічна фізіологія та імунологія” 17 квітня 2003 року (протокол № 26).

Мета роботи. Вивчити гепато-моноцитарно-ендотеліальні асоціації NO–залежних процесів за умов хронічної гіперімунокомплексемії і патогенетичні шляхи їх фармакокорекції корвітином.

Завдання дослідження:

1. Вивчити активність синтаз оксиду азоту (конститутивної та індукційної) у тканині печінки, моноцитах та ендотеліоцитах інтактних тварин та за умов хронічної гіперімунокомплексемії.
2. Дослідити вміст стабільних метаболітів оксиду азоту – нітрит-аніону і нітрат-аніону у тканині печінки, моноцитах та ендотеліоцитах інтактних тварин та за умов хронічної гіперімунокомплексемії.
3. Встановити вміст циклічних пуринових нуклеотидів – циклічного аденозин-3',5'-монофосфату і циклічного гуанозин-3',5'-монофосфату в тканині печінки, моноцитах та ендотеліоцитах інтактних тварин та за умов хронічної гіперімунокомплексемії.
4. Провести електронно-мікроскопічні дослідження тканин печінки, моноцитів та ендотеліоцитів інтактних тварин та за умов хронічної гіперімунокомплексемії.

5. Дослідити можливість корекції виявлених функціонально-морфологічних порушень корвітином.

Об'єкт дослідження – хронічний гіперімунокомплексний процес, відтворений у білих лабораторних щурів із використанням моделі хронічної сироваткової хвороби.

Предмет дослідження – показники системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів тканини печінки, моноцитів, ендотеліоцитів інтактних тварин, тварин з хронічним гіперімунокомплексним процесом та при введенні цим тваринам корвітину.

Методи дослідження:

З метою визначення циркулюючих імунних комплексів різних розмірів і гемолітичної активності комплементу застосовано імунологічні методи дослідження.

З метою визначення активності синтаз оксиду азоту, рівня стабільних метаболітів оксиду азоту та вмісту циклічних нуклеотидів застосовано біохімічні методи дослідження.

З метою визначення ультраструктурних змін застосовано електронно-мікроскопічне дослідження тканин печінки, моноцитів та ендотеліоцитів.

Наукова новизна одержаних результатів. На підставі проведених експериментальних досліджень вперше показана роль системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів у розвитку хронічної гіперімунокомплексемії. Вперше виявлено зміни активності синтаз оксиду азоту, вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту та циклічних нуклеотидів у тканині печінки, моноцитах і ендотеліоцитах за умов даної патології. Вперше виявлені ультраструктурні зміни у тканині печінки, моноцитах та ендотеліоцитах при хронічній гіперімунокомплексемії. Вперше встановлено, що ці зміни корелюють із показниками системи оксиду азоту та циклічних нуклеотидів. Вперше патогенетично обґрунтована доцільність використання корвітину для корекції порушень при імунокомплексній патології.

Практичне значення одержаних результатів. Результати проведених досліджень розкривають раніше невідомі механізми патофізіологічних змін у печінці, моноцитах і ендотеліоцитах за умов хронічної гіперімунокомплексемії та поглиблюють уявлення про патогенез імунокомплексної патології. Отримані дані дозволяють оцінити участь в цих процесах системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів та обґрунтовують доцільність методичних розробок для застосування корвітину в терапії імунокомплексних захворювань. Положення і висновки роботи впроваджені в навчальний процес і використовуються при читанні лекцій та на практичних заняттях кафедр патологічної фізіології Дніпропетровської державної медичної академії, Тернопільського державного медичного університету імені І.Я.Горбачевського, Буковинського державного медичного університету, на кафедрі нормальної і патологічної фізіології медичного факультету Сумського державного університету, на кафедрах патологічної анатомії Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, Тернопільського державного

медичного університету імені І.Я.Горбачевського, на кафедрі фармакології Буковинського державного медичного університету, що підтверджено відповідними актами впровадження.

Особистий внесок здобувача: Автором виконано патентно-інформаційний пошук та обґрунтування напрямку досліджень. На основі проведеного літературного огляду автором визначено мету і задачі дослідження, методичні підходи, вибрано і відпрацьовано адекватні моделі і методики. Самостійно проведено всю експериментальну частину роботи, статистичну обробку отриманих результатів, їх аналіз та підготовку до публікацій. Електронно-мікроскопічні дослідження проводились за консультативної допомоги кандидата біологічних наук В.І.Ковалишина. Висновки та практичні рекомендації сформульовано сумісно з науковим керівником. Фактичний матеріал і основний творчий доробок в опублікованих наукових працях у співавторстві, а також в актах впровадження, що стосуються науково-практичної новизни, належать здобувачу.

Апробація результатів дисертації: Основні положення дисертаційної роботи оприлюднені на IV національному конгресі патофізіологів України (Чернівці, 2004), на установчому з'їзді Українського товариства клітинної біології (Львів, 2004), на X конгресі Світової Федерації Українських Лікарських Товариств (Чернівці, 2004), на V міжнародній конференції студентів і молодих вчених “Молодь – медицині майбутнього” (Дніпропетровськ, 2004), на конференції “Стан і перспективи розвитку медичної генетики, алергології та клінічної імунопатології” (Трускавець, 2005). Результати дисертаційної роботи доповідались також на спільному засіданні Львівської обласної філії наукового медичного товариства патофізіологів і кафедр патологічної фізіології та клінічної імунології і алергології Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (Львів, 2005).

Публікації. Опубліковано 8 наукових праць, з яких 3 – у фахових наукових виданнях та 5 – у матеріалах і збірниках конгресів та конференцій.

Структура дисертації. Дисертацію викладено на 154 сторінках машинописного тексту, ілюстровано 33 рисунками та 25 таблицями. Робота складається із списку скорочень, вступу, огляду літератури, розділів описання матеріалів і методів дослідження, результатів дослідження, аналізу і узагальнення результатів, висновків, списку використаних джерел, що нараховує 293 найменування, додатків. Бібліографічний опис літературних джерел, ілюстрації та додатки викладені на 43 сторінках.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Експерименти проведені на самцях безпородних білих щурів, масою 200-250г, яких утримували в індивідуальних клітках на стандартному раціоні віварію, в осінню пору року. Експерименти на тваринах проводили у відповідності до Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для

експериментальних та наукових цілей (Страсбург, 1986). Комісією Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол №8 від 15.12.2004р.) порушень вимог біоетики при проведенні експериментальних досліджень не виявлено. Всього використано 180 тварин. Всі експериментальні тварини були поділені на 4 групи:

I група - інтактні тварини, які отримували плацебо і служили контролем – 45 тварин.

II група - інтактні тварини, яким вводили розчин корвітину – 45 тварин.

III група - тварини з хронічним гіперімунокомплексним процесом, яким вводили плацебо – 45 тварин.

IV група - тварини з хронічним гіперімунокомплексним процесом, яким вводили розчин корвітину – 45 тварин.

Тест-об'єктами досліджень служили тканина печінки, моноцити та ендотеліоцити аорти. В усіх групах проведені дослідження показників системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів. Паралельно, в аналогічних умовах, вивчались методом електронної мікроскопії ультраструктурні зміни у тканині печінки, моноцитах і ендотеліоцитах аорти на предмет виявлення функціонально-морфологічних взаємозв'язків з наступною їх корекцією корвітином.

В даній роботі нами використана класична модель хронічного гіперімунокомплексного процесу запропонована (Cochrane C., Koffer D., 1973) у модифікації (Willson C. et al., 1976). Оскільки для цього патологічного процесу є характерним збільшення рівня циркулюючих імунних комплексів, за їх рівнем у сироватці крові оцінювали ступінь розвитку хвороби.

Протягом експерименту проводили забір крові для визначення рівня циркулюючих імунних комплексів (Haskova V. et al., 1977) і комплементарної активності (Лаповець Л.С., Луцик Б.Д., 2002) та виділення моноцитів шляхом центрифугування в градієнті щільності фікол-верографін (Мазуров Д.В. та ін., 2001). Виділення ендотеліальних клітин з аорти проводили за допомогою ферментативного диспергування (Коваленко Т.М. та ін., 1999).

У тканині печінки, моноцитах і ендотеліоцитах визначали показники системи оксиду азоту [активність індукцибельної (iNOS), конститутивної (cNOS) синтаз оксиду азоту та вміст стабільних метаболітів оксиду азоту – нітрит- та нітрат-аніону (NO_2^- та NO_3^-)] і системи циклічних нуклеотидів [рівень циклічного аденозин-3',5'-монофосфату (цАМФ) та циклічного гуанозин-3',5'-монофосфату (цГМФ)]. Для визначення активності NOS використовували класичний метод (Selter M. et al., 1991), пристосований для спектрофотометричного вимірювання продуктів реакції – нітрит-аніона (Коцюрuba А.В. та ін., 2000). Вміст нітрат-аніону визначали за методом (Bank N.R et al., 1993). Активність NOS представляли у пікомолях NO_2^- , що утворювався за 1 хв на 1 мг загального білку проби, вміст NO_2^- у пікомолях на 1 мг білка, NO_3^- у наномолях на 1 мг білку. Вміст загального білку у пробах визначали загальноновживаним методом Бредфорда (Bradford M.,

1976). Вміст циклічних нуклеотидів визначали за допомогою стандартного набору реактивів [(³H)-cAMP RIA kit] і представляли у фмолях на 1 мг білку.

При проведенні досліджень застосовували корвітин, розроблений в Україні (Київська медична академія післядипломної освіти ім.П.Л.Шупика та Інститут фізіології ім. О.О.Богомольця) і освоєний Борщагівським фармацевтичним заводом.

Статистичний аналіз отриманих даних проводився за допомогою методу варіаційної статистики (Лапич С.Н. и др., 2000) з використанням t-критерію Стьюдента для оцінки вірогідності відмінностей груп даних. Статистично вірогідними вважалися результати, для яких $P < 0,05$.

Основні результати досліджень та їх обговорення. Вивчення особливостей хронічної гіперімунокомплексмії (ХГІК) показало, що її розвиток підтверджується підвищенням показників циркулюючих імунних комплексів (ЦІК) у порівнянні з контрольною групою. Зросла також активність системи комплементу у порівнянні з контрольними показниками. Активація комплементу ЦІК супроводжується їх адгезією через С3-рецептори на клітинах крові. За участю цього механізму вони елімінуються фагоцитарною системою (Дранник Г.Н., 1999; Ройт А., Бростофф Дж. Мейл Д., 2000). При надмірному утворенні ЦІК ця система може не спрацювати і вони починають проявляти патогенну дію по відношенню до клітин-мішеней. В першу чергу порушення відмічаються у судинній стінці. Імунні комплекси займають спочатку субендотеліально-мезангіальну зону, а потім поширюються по субендотеліальному простору, формуючи субендотеліальні депозити (Константинова Н.А., 1995; Ройт А., Бростофф Дж. Мейл Д., 2000).

Вивчення стану системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів у тканині печінки, моноцитах та ендотеліоцитах тварин з ХГІК показало, що при цій патології в показниках, які характеризують дану систему, спостерігаються суттєві зміни. За даних умов у підсистемі NO відмічено активацію iNOS та пригнічення cNOS у всіх досліджуваних тест-об'єктах (рис.1). Суттєве збільшення активності iNOS може бути пов'язане з розвитком запального процесу в стінці судин та периваскулярному просторі мікроциркулярного русла печінки і судин загалом при іммунокомплексному ураженні.

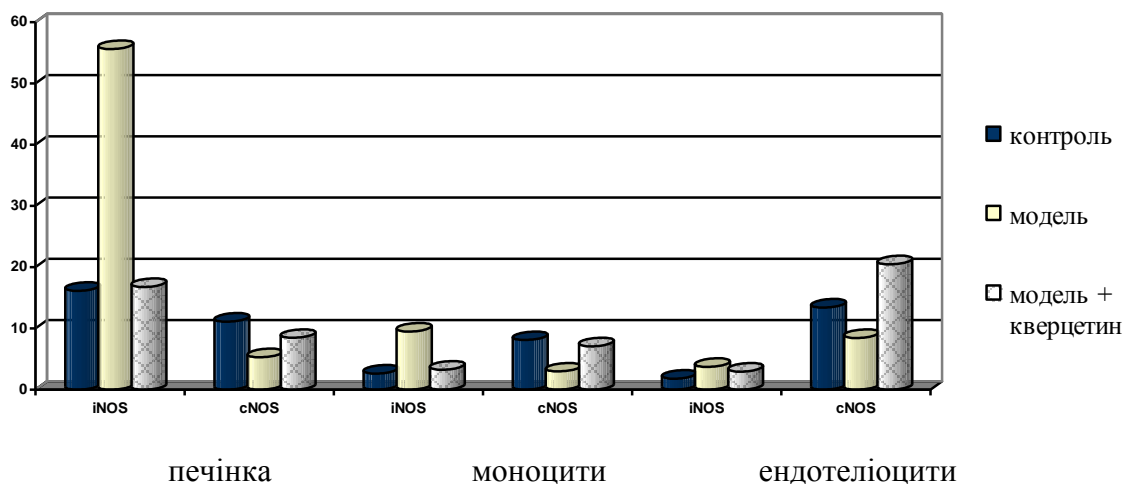


Рис. 1. Вплив корвітину на активність NO-синтаз у досліджуваних тест-об'єктах за умов ХГІК (пмоль за хв/мг білка).

Паралельно з підвищенням ферментативної активності iNOS виявлено пониження вмісту стабільних метаболітів NO – NO₂⁻ і NO₃⁻ в усіх досліджуваних тест-об'єктах (рис. 2, 3), за винятком рівня NO₂⁻ у моноцитах, який значно підвищився. Необхідно відмітити, що у тканині печінки за умов ХГІК сума стабільних метаболітів зменшилась в більшій мірі, ніж доля нітрит-аніону, що вказує на більш інтенсивне зниження найбільш окисного метаболіту NO – NO₃⁻. У моноцитах за цих умов частка NO₂⁻ в загальній сумі стабільних метаболітів NO значно зростає. Враховуючи більшу токсичність NO₂⁻ порівняно з NO₃ (Burner U. et al., 2000), можна сказати, що за умов ХГІК у моноцитах значно більший потенціал реалізації токсичної дії NO₂⁻ через можливу генерацію двох радикалів, особливо агресивним з яких є діоксид азоту (NO₂), що з одного боку є ініціатором перекисного окиснення ліпідів, а також пошкоджувачем білкових молекул і молекул нуклеїнових кислот, а з іншого нітруючим агентом. У ендотеліоцитах доля нітрит-аніону значно вища, ніж у печінці і моноцитах, проте за умов ХГІК вона не змінюється. Особливо потрібно вказати на той факт, що на фоні значного зростання сумарної активності NOS у печінці сума метаболітів знижується у 1,8 рази. Це свідчить про те, що значна частина NO, що синтезується *de novo* із L-аргініну в NO-синтазній реакції використовується в умовах ХГІК, що супроводжується оксидативним стресом, для синтезу інших метаболітів, ніж його стабільні метаболіти – NO₂⁻ і NO₃⁻, які утворюються за умов відсутності окисного стресу. Можливо за умов ХГІК має місце генерація NOS не NO-радикалу, а O₂⁻ - супероксидного радикалу (Xia Y. et al., 1996). В такому разі можливе утворення пероксинітриту і пероксинітритної кислоти, яка розпадається з утворенням діоксиду азоту (NO₂) та OH-радикалу, а не H⁺ і NO₃⁻, оскільки рівні NO₃⁻ за умов ХГІК знижуються (Pfeiffer S. et al., 1997).

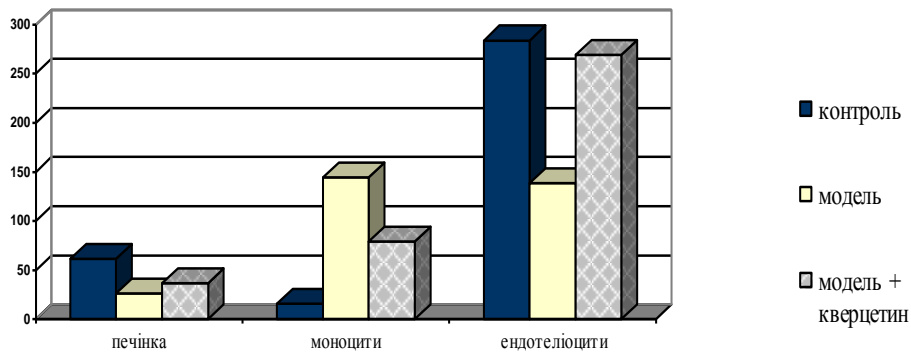


Рис. 2. Вплив корвітину на рівень NO_2^- у досліджуваних тест-об'єктах тварин за умов ХГІК (пмоль/мг білка).

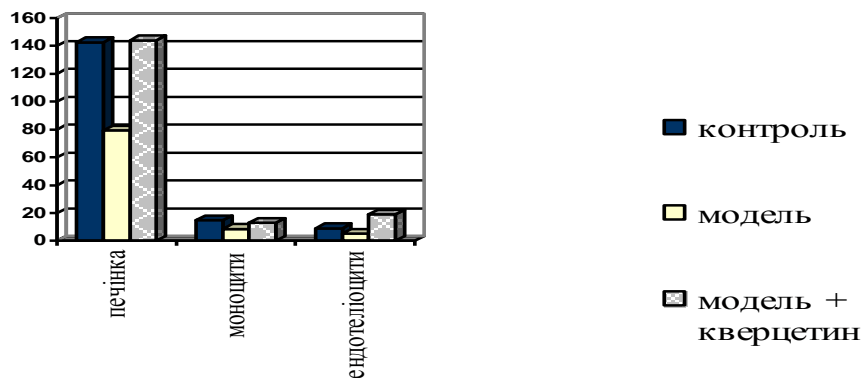


Рис. 3. Вплив корвітину на рівень NO_3^- у досліджуваних тест-об'єктах тварин за умов ХГІК (нмоль/мг білка).

В свою чергу, при інтенсивному утворенні пероксинітриту, що є можливим при ХГІК, не виключено перетворення радикалів NO_2 і OH з утворенням не нітрат-аніону, а нітрит-аніону.

У підсистемі циклічних нуклеотидів за умов досліджуваної патології відмічено зниження концентрації цАМФ і цГМФ у всіх досліджуваних тест-об'єктах (рис.4), за винятком вмісту цГМФ у моноцитах, який також, як і вміст NO_2^- значно підвищився.

За даними (Ж.-К. Стокле та ін., 1998) при пошкодженні ендотелію експресія iNOS компенсує втрату eNOS і тому є захисним механізмом, послаблюючи рекрутування моноцитів і нейтрофільних гранулоцитів, обмежуючи запальний процес і суттєво попереджуючи гіперплазію інтими. Проте у високій концентрації NO володіє цитотоксичною дією і здатністю викликати клітинний апоптоз, а пероксинітрит, що виникає при паралельному утворенні великих кількостей NO і O_2^- , чинить виражену прооксидантну дію.

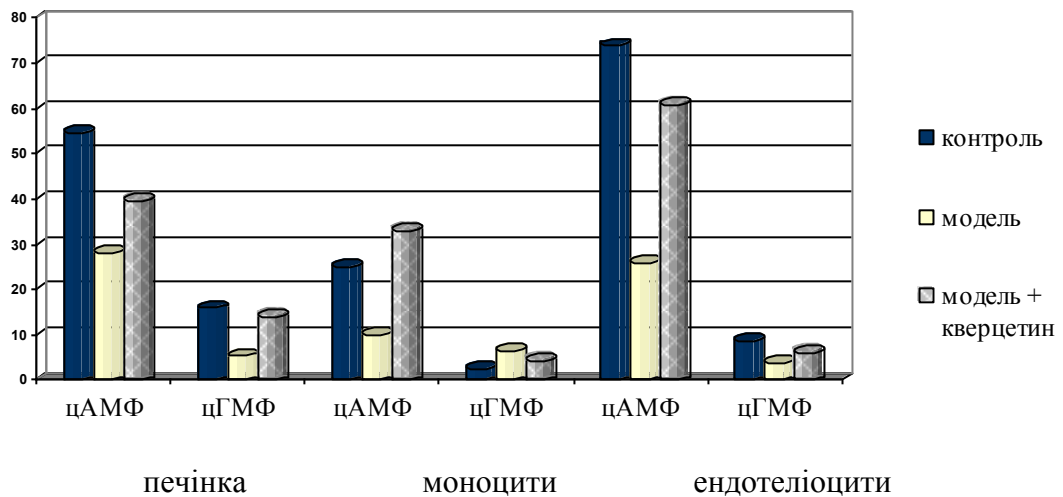


Рис. 4. Вплив корвітину на рівень ЦН у досліджуваних тест-об'єктах за умов ХГІК (фмоль/мг білка).

Експресія iNOS у судинній стінці при запаленні супроводжується вивільненням великої кількості прозапальних ейкозаноїдів типу простагландинів E_2 , $F_{2\alpha}$, простацикліну і є одним з механізмів прогресування запалення (Братусь В.В., 2003).

При системному запаленні відбувається пошкодження тканини печінки, яке супроводжується експресією iNOS (Тейлор Б.С. и др., 1998). NO, що продукується локально, захищає печінку від пошкодження. NO здійснює цитопротекторну дію і посилює кровотік у мікросудинах тільки при слабкій його генерації. При надлишку NO, який продукується iNOS, він здійснює цитотоксичну дію (Brett E. et al., 1998).

Результати досліджень (Марков В.О. и др., 2002; Титова И.В. и др., 2004; Calabrese V. Et al., 2000; R.J. Van'T Hof, et al., 2000; Alderton W.K. et al., 2001) свідчать, що активація NO-синтази може служити причиною загибелі шляхом апоптозу макрофагів, тимоцитів, клітин підшлункової залози, клітин коркових нейронів, гладком'язових клітин і фібробластів. Підтвердженням цитотоксичної дії NO при ХГІК служать результати електронно-мікроскопічних досліджень тканин печінки, моноцитів та ендотеліоцитів.

Дослідження тканин печінки модельної групи тварин за умов ХГІК виявили значні зміни ультраструктур синусоїдних гемокапілярів. В першу чергу це стосується того, що основна маса синусоїдних гемокапілярів перебувала в стані набряку, а їх просвіти були заповнені скупченнями електроннощільних еритроцитів неправильної форми, які, як правило, перебували в оточенні лапятих мас плазми крові, що представляли собою преципітати та коагуляти.

Ділянки синусоїдних гемокапілярів, які частково не зберігали цілісність своєї стінки, вміщували скупчення еритроцитів, які перебували в прямих контактах як між собою, так і з

люмінальною поверхнею ендотеліальних клітин та моноцитів. Клітини Купфера мали дезорганізовану електронно-світлу цитоплазму, що наповнена аутофаголізосомами. До пошкоджених клітин, що знаходились в плазмі крові, часто прилягали дезорганізовані моноцити. Ядра моноцитів, клітин Купфера часто мали куполоподібні утворення, що свідчить про передапоптичні процеси (Аруин Л.И., 1998), індуковані імунотоксичним ураженням. Важливу роль у механізмах апоптозу у даному випадку може відігравати підвищена активність iNOS, яка ініціює токсичні ефекти NO через утворення пероксинітриду.

У моноцитах тварин з імунотоксичною патологією превалюють деструктивні процеси. Порушується цілісність мембрани клітин, збільшується оводненість цитоплазми. Спостерігається набухання і вакуолізація мітохондрій, що вміщують дезорганізовані кристи, значну кількість аутофаголізосом, мікроміхурців. Спостерігається набухання ядерної мембрани досліджуваних клітин із втратою її цілісності.

При дослідженні черевного відділу аорти тварин з ХГК, встановлено, що внутрішній шар аорти модельних тварин в ряді місць був деендотелізований, на значних його ділянках представлений сплющеної форми дезорганізованими клітинами, плазматична мембрана яких була часто перервною та вміщувала дрібні депозити. Отримані дані свідчать про глибокі пошкодження та вказують на значні альтеративні впливи, що ініційовані хронічною гіперімунотоксичністю. Такі альтеруючі впливи на окремі ділянки внутрішньої оболонки приводять аж до некрозу та десквамації ендотеліальних клітин у просвіт артерії. Виявлена нами присутність депозитів у плазматичній мембрані пошкоджених ендотеліальних клітин може свідчити про патогенну дію імунних комплексів, які утворюються у великій кількості за умов довготривалого введення бичачого сироваткового альбуміну (БСА).

Питання терапії хронічного гіперімунотоксичного процесу є досить складним і суперечливим. Ми в експерименті намагались оцінити вплив на цей процес корвітину.

Вивчення впливу корвітину на імунологічні показники інтактних тварин показало, що даний препарат знижує рівні ЦК усіх розмірів, особливо великих і малих, та показник гемолітичної активності сироватки крові, що свідчить про посилення елімінації ЦК з кровоплину фагоцитуючими клітинами.

При дослідженні показників системи оксиду азоту за цих умов виявлено, що у тканині печінки і моноцитах достовірно підвищується активність sNOS, в ендотеліоцитах спостерігається лише тенденція до її підвищення. Паралельно з цим у тканині печінки відмічено достовірне підвищення вмісту NO_3^- . Частка NO_2^- у печінці та ендотеліоцитах у загальній сумі метаболітів зменшується. Це свідчить, що корвітин стимулює активність конститутивної ізоформи NO-синтази і підвищує продукцію нітрат-аніону у печінці, які забезпечують протікання фізіологічних функцій (Ванин А.Ф., 2000, Ивашкин В.Т., Драпкина О.М., 2000, Alderton W.K. et al., 2001).

Змін у вмісті ЦН у досліджуваних тест-об'єктах при введенні корвітину інтактним тваринам не виявлено, за винятком рівня цАМФ у моноцитах, який зріс у 1,6 рази ($P < 0,05$).

При дослідженні впливу корвітину на ультраструктуру тканин печінки, моноцитів та ендотеліоцитів інтактних тварин виявлено, що даний препарат забезпечує високого ступеня контурність плазматичних мембран клітин та субклітинних структур, що може вказувати на його мембранозберігаючу дію (Потапович А.И., Костюк В.А., 2003). Наявність в цитоплазмі гепатоцитів та ендотеліальних клітин великої кількості мітохондрій може свідчити про збільшення мітохондріального резерву та кількості мітохондрій, що беруть участь у виробленні АТФ та енергозабезпеченні клітин.

Введення корвітину тваринам з ХГК приводить до зменшення продукції патогенних ЦІК та підвищення показника гемолітичної активності системи комплементу, що свідчить про корегуючий вплив препарату на імунологічні показники при досліджуваній патології.

При дослідженні показників системи NO і ЦН встановлено, що введення тваринам з ХГК корвітину статистично достовірно нормалізує у досліджуваних тест-об'єктах підсистему оксиду азоту в основному за рахунок інгібування активності iNOS і, навпаки, активації cNOS, причому активність cNOS у ендотеліоцитах навіть значно перевищує норму. Необхідно відмітити, що одночасно під впливом корвітину нормалізується вміст NO_3^- в печінці і моноцитах та NO_2^- в ендотеліоцитах. З боку NO_2^- в печінці і моноцитах спостерігається тенденція до нормалізації, хоча рівень його достовірно відрізняється від контрольного. Що стосується NO_3^- в ендотеліоцитах, то під впливом препарату вміст його, як і активність cNOS, підвищується, значно переважаючи значення у інтактних тварин. Введення корвітину тваринам з імунокомплексною патологією веде до нормалізації вмісту і циклічних нуклеотидів у печінці, моноцитах і ендотеліоцитах.

Основним механізмом нормалізуючої дії корвітину на сигнальну систему NO – ЦН слід вважати результати імунологічних досліджень, які вказують на значну супресію генерації ЦІК за дії цього препарату на тварин з ХГК. При цьому може мати місце зниження індукторів iNOS і цим може бути зумовлене зниження активності iNOS (Пархоменко А.Н. та ін., 2000) та зменшення утворення NO, що інгібує активність cNOS. Нормалізація вмісту ЦН за цих умов, на нашу думку, є вторинним ефектом дії корвітину на підсистему NO.

Нормалізація імунологічних і біохімічних показників при застосуванні корвітину у тварин з ХГК супроводжувалась змінами і ультраструктури досліджуваних тест-об'єктів. Введення корвітину білим щурам з ХГК позитивно вплинуло на стан синусоїдних гемокапілярів печінки. У всіх випадках вони були прохідними. На окремих ділянках синусоїдні гемокапіляри організовані ендотеліальними клітинами, а в інших – ендотеліальними клітинами та клітинами Купфера. У випадку, коли синусоїдні гемокапіляри утворені тільки ендотеліальними клітинами, їх просвіти

вміщували скупчення еритроцитів, моноцитів, а також великих розмірів електронно-світлих малодиференційованих клітин. Такі малодиференційовані клітини мають велике ядерно-цитоплазматичне співвідношення, бобовидної форми ядро та нуклеонемної форми ядрце. У тих місцях, де відсутні ендотеліальні клітини, електронно-світлі малодиференційовані клітини частиною своєї поверхні переважно прилягали до плазматичної мембрани синусоїдального полюсу цитоплазми гепатоцитів. У ділянках синусоїдних гемокапілярів, що мали у своїй стінці частково присутні ендотеліальні клітини і клітини Купфера, плазма крові вміщувала лапаті маси, еритроцити, моноцити в поєднанні із тромбоцитами. Переважно найбільша частка такого поєднання тромбоцитів, моноцитів і лапатих мас припадала на об'єми синусоїдного гемокапіляра, який позбавлений ендотеліального покриття. Присутність моноцитів безпосередньо біля оголеного простору Діссе може вказувати на міграцію їх до зони пошкодження з подальшою участю у локалізації запального процесу і формуванні клітинної вистилки синусоїдних гемокапілярів та забезпечення їх відновлення. Що стосується синусоїдних гемокапілярів, стінка яких має ендотеліальні клітини та клітини Купфера, то їх просвіти розширені та вміщують поодинокі еритроцити, нейтрофільні гранулоцити, лімфоцити. Виявлені зміни свідчать, що застосування корвітину значною мірою сприяє відновленню оптимального стану клітинних та неклітинних структур синусоїдних гемокапілярів.

Введення корвітину тваринам з ХГК призводило до суттєвого покращення морфофункціонального стану моноцитів. У клітинах зберігалась незначно виражена дисконкомплексія крист. При цьому повністю реалізувався мембранопротекторний ефект препарату – не спостерігалось пошкодження ані цитоплазматичної, ані ядерної мембран.

Застосування у тварин з ХГК корвітину забезпечило на ультраструктурному рівні цілісність внутрішньої оболонки аорти. Ендотелій аорти представлений в основному щільно прилягаючими своїми латеральними поверхнями одна до одної ендотеліальними клітинами кубічної форми, що мають середню електронну щільність ядра, наповненого еухроматином, та цитоплазми, багаті на рибосоми, полісоми і мітохондрії. Ці зміни свідчать про посилені регенераторні процеси у внутрішній оболонці аорти.

Таким чином, проведені експериментальні дослідження показали, що корвітин за умов хронічної гіперімунокомплексемії нормалізує імунологічні, біохімічні і ультраструктурні порушення, і виявляє імуносупресивний, протизапальний, цитопротекторний і ендотелійстабілізуючий ефекти.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведені нові теоретичні узагальнення результатів дослідження і по новому вирішене наукове завдання, що полягає у з'ясуванні ролі NO-залежних процесів у печінці та їх зв'язку з моноцитарно-ендотеліальними асоціаціями за умов хронічної гіперімунокомплексемії. Описані механізми впливу циркулюючих імунних комплексів на ультраструктурні особливості цих клітин.

Запропоновані нові підходи до корекції функціонально-структурних порушень, зумовлених хронічною гіперімунокомплексемією, за допомогою корвітину.

В результаті вирішення наукового завдання зроблено наступні висновки:

1. Хронічна гіперімунокомплексемія, розвиток якої підтверджується зростанням показників циркулюючих імунних комплексів ($P < 0,01$), викликає суттєві зміни показників системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів у тканині печінки. Сумарна активність NOS зростає у 2,2 рази ($P < 0,001$), а її ізоформи мають різнонаправлені зміни: активність iNOS підвищилась у 3,4 рази ($P < 0,001$), а cNOS зменшилась у 2,1 рази ($P < 0,01$), що зумовлює зниження показника співвідношення cNOS/iNOS у 8,3 рази ($P < 0,001$). У моноцитах і ендотеліоцитах сумарна активність NOS не змінилась. При цьому її ізоформи зазнали суттєвих змін, аналогічних до таких, як у тканині печінки: активність iNOS у моноцитах зросла у 3,6 рази ($P < 0,001$), в ендотеліоцитах – у 2 рази ($P < 0,05$), а cNOS понизилась у моноцитах у 2,7 рази ($P < 0,001$), в ендотеліоцитах – 1,6 рази ($P < 0,05$).

2. За умов хронічної гіперімунокомплексемії виникають порушення вмісту стабільних метаболітів оксиду азоту і концентрації циклічних нуклеотидів в усіх досліджуваних тест-об'єктах. У тканині печінки і ендотеліоцитах рівень NO_2^- знизився відповідно у 2,3 рази ($P < 0,001$) і 2 рази ($P < 0,01$), вміст NO_3^- зменшився відповідно у 1,8 рази ($P < 0,01$) і 1,7 рази ($P < 0,01$). У тканині печінки відмічено зниження концентрації цАМФ у 2 рази ($P < 0,001$) та цГМФ – у 3 рази ($P < 0,001$). У ендотеліоцитах концентрація цАМФ та цГМФ знизилась відповідно у 2,8 ($P < 0,001$) та у 2.2 рази ($P < 0,001$). В той час у моноцитах відмічено підвищення вмісту NO_2^- у 9 разів ($P < 0,001$) і концентрації цГМФ у 2,8 рази ($P < 0,001$) і зниження рівня NO_3^- у 1,7 рази ($P < 0,05$) і цАМФ – у 2,5 рази ($P < 0,01$).

3. Показано, що у тканині печінки за умов хронічної гіперімунокомплексемії змінена ультраструктура синусоїдних гемокапілярів. Основна їх маса перебувала в стані набряку, а їх просвіт заповнений скупченнями еритроцитів в оточенні лапатих мас плазми, які представляють собою преципітати та коагуляти. Дезорганізована і цитоплазма гепатоцитів. Виявлено гіпертрофований комплекс Гольджі, збільшена кількість аутофаголізосом, мітохондрії в стані

набряку, зменшена кількість глікогену. Констатовано пошкодження цитоплазматичних і ядерних мембран моноцитів і ендотеліоцитів.

4. Застосування корвітину у тварин з хронічною гіперімунокомплексемією нормалізує порушення імунологічних і біохімічних показників. Зменшується рівень патогенних ЦІК ($P < 0,001$) і активність системи комплементу ($P < 0,05$). В усіх досліджуваних тест-об'єктах нормалізуються показники системи оксиду азоту і циклічних нуклеотидів за рахунок зменшення активності iNOS у 3,3 рази ($P < 0,05$) і активації cNOS у 1,6 рази ($P < 0,05$), нормалізації вмісту стабільних метаболітів ($P > 0,05$) і концентрації циклічних нуклеотидів ($P > 0,05$).

5. Нормалізація імунологічних і біохімічних показників при застосуванні корвітину у тварин з хронічною гіперімунокомплексемією супроводжується позитивними змінами ультраструктури досліджуваних тест-об'єктів. Відновлюється оптимальний стан клітинних і неклітинних структур синусоїдних гемокапілярів. Спостерігається нормалізація ультраструктури моноцитів і ендотеліоцитів з відновленням цитоплазматичних і ядерних мембран.

ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Качмарська М.О., Бідюк М.М., Чоп'як В.В., Ковалишин В.І. Ультраструктурна організація тканин печінки за умов хронічної гіперімунокомплексемії в експерименті // Вісник наукових досліджень. – 2003. – №3. – С.74-77. (Автор приймала участь у електронно-мікроскопічних дослідженнях, самостійно проаналізовано та узагальнено виявлені зміни, написано статтю).
2. Качмарська М.О., Чоп'як В.В., Ковалишин В.І., Садляк О.В., Вальчук І.В. Вплив корвітину на ультраструктуру синусоїдних гемокапілярів печінки білих щурів за умов хронічного гіперімунокомплексного процесу // Клінічна та експериментальна патологія. – 2004. – Т.ІІІ, №2. – С.363-365. (Автор приймала участь у електронно-мікроскопічних дослідженнях, самостійно проаналізовано та узагальнено виявлені зміни, написано статтю).
3. Качмарська М.О., Бідюк М.М., Чоп'як В.В., Ковалишин В.І. Експериментальна корекція хронічного гіперімунокомплексного процесу // Вісник наукових досліджень. – 2004. – №3. – С.125-128. (Автор приймала участь у електронно-мікроскопічних дослідженнях, самостійно проаналізовано та узагальнено виявлені зміни, написано статтю).
4. Бідюк М., Чоп'як В., Любінець Л., Качмарська М. Хронічний гіперімунокомплексний процес та регуляція синтезу оксиду азоту // Актуальні проблеми клінічної імунології та алергології. – 1998. – №2. – С.21-30. (Автором самостійно проведено дослідження вмісту нітрит-аніону і циклічних нуклеотидів у тканині печінки тварин з хронічним гіперімунокомплексним процесом, здійснено аналіз літературних джерел, проаналізовано та узагальнено виявлені зміни).

5. Бідюк М.М., Чоп'як В.В., Качмарська М.О., Любінець Л.А., Никитюк Г.П. Обмін L-аргініну за умов хронічної гіперімунокомплексемії // Фізіологічний журнал – 2000. – Т.46, №2. – С.50-51. (Автором самостійно проведено дослідження вмісту оксиду азоту у тканині печінки тварин з хронічним гіперімунокомплексним процесом, проаналізовано та узагальнено виявлені зміни).
6. Качмарська М.О., Бідюк М.М., Чоп'як В.В., Любінець Л.А. Продукція оксиду азоту моноцитами білих щурів з імунокомплексною патологією // Тези доповідей Установчого з'їзду Українського товариства клітинної біології. – Львів, 2004. – С.288. (Автором самостійно проведено дослідження показників системи оксиду азоту у моноцитах тварин з хронічним гіперімунокомплексним процесом, проаналізовано та узагальнено виявлені зміни, написано тези).
7. Качмарська М.О. Вплив корвітину на NO-синтазу активність печінки за умов хронічного гіперімунокомплексного процесу в експерименті // Тези доповідей X конгресу СФУЛТ. – Чернівці, 2004. – С.388.
8. Качмарська М. Стан системи циклічних нуклеотидів в моноцитах за умов хронічної гіперімунокомплексемії // Тези доповідей V міжнародної конференції студентів і молодих вчених “Молодь – медицині майбутнього”. – Дніпропетровськ. – 2004. – С.18-19.

АНОТАЦІЯ

Качмарська М.О. NO-залежні процеси у печінці та їх зв'язок з моноцитарно-ендотеліальними асоціаціями при хронічній гіперімунокомплексемії. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 14.03.04 – патологічна фізіологія. – Тернопільський державний медичний університет імені І.Я.Горбачевського МОЗ України. Тернопіль, 2005.

Дисертаційна робота присвячена вивченню гепато-моноцитарно-ендотеліальних асоціацій NO-залежних процесів за умов хронічної гіперімунокомплексемії і патогенетичних шляхів їх фармакокорекції корвітином. В експериментах на білих щурах-самцях досліджено показники системи оксиду азоту (активність iNOS, cNOS, вміст NO_2^- і NO_3^-) та циклічних нуклеотидів (цАМФ і цГМФ) у печінці, моноцитах та ендотеліоцитах за умов хронічної гіперімунокомплексемії (ХГІК) та її корекції корвітином. Паралельно за даних умов вивчено ультраструктурні зміни досліджуваних тест-об'єктів.

За отриманими даними при ХГІК спостерігається активація iNOS та пригнічення cNOS в печінці, моноцитах і ендотеліоцитах. Одночасно з цим відмічено зниження суми стабільних метаболітів - NO_2^- і NO_3^- та рівнів цАМФ і цГМФ в усіх досліджуваних тест-об'єктах. Підвищення активності iNOS супроводжувалось деструктивними змінами у тканині печінки, моноцитах та ендотеліоцитах. Ці дані свідчать про участь активації iNOS у розвитку порушень

при хронічній гіперімунокомплексемії. Застосування корвітину при ХГК нормалізує у досліджуваних тест-об'єктах систему NO за рахунок зниження активності iNOS і підвищення – cNOS. Одночасно нормалізується вміст NO_3^- у печінці і моноцитах та NO_2^- в ендотеліоцитах. З боку NO_2^- у печінці і моноцитах спостерігається тенденція до нормалізації. Рівень NO_3^- у ендотеліоцитах підвищується. Відмічено нормалізацію вмісту циклічних нуклеотидів. Введення корвітину супроводжувались позитивними змінами і ультраструктури печінки, моноцитів та ендотеліоцитів. Таким чином, проведені експериментальні дослідження показали, що корвітин за умов хронічної гіперімунокомплексемії нормалізує імунологічні, біохімічні і ультраструктурні порушення, і виявляє виявляє імуносупресивний, протизапальний, цитопротекторний і ендотелійстабілізуючий ефекти.

Ключові слова: хронічна гіперімунокомплексемія, оксид азоту, циклічні нуклеотиди, печінка, моноцити, ендотеліоцити, корвітин.

АННОТАЦИЯ

Качмарская М.О. NO-зависимые процессы в печени и их взаимосвязь с моноцитарно-эндотелиальными ассоциациями при хронической гипериммунокомплексемии. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата медицинских наук по специальности 14.03.04. – патологическая физиология. – Тернопольский государственный медицинский университет имени И.Я. Горбачевского МЗ Украины. Тернополь, 2005.

Диссертационная работа посвящена изучению гепато-моноцитарно-эндотелиальных ассоциаций NO-зависимых процессов при хронической гипериммунокомплексемии и патогенетических путей их фармакокоррекции корвитином. В экспериментах на белых крысах-самцах изучены показатели системы оксида азота (активность синтаз оксида азота – iNOS, cNOS, содержание стабильных метаболитов – NO_2^- и NO_3^-) и циклических нуклеотидов (цАМФ и цГМФ) в печени, моноцитах и эндотелиоцитах при хронической гипериммунокомплексемии и ее коррекции корвитином. Кроме того, в аналогичных условиях изучены ультраструктурные изменения исследуемых тест-объектов. В работе использованы иммунологические, биохимические и электронно-микроскопические методы исследования.

Изучение особенностей хронического гипериммунокомплексного процесса показало, что его развитие подтверждается повышением показателей циркулирующих иммунных комплексов и снижением гемолитической активности сыворотки крови. Развитие данного патологического процесса обусловило существенные изменения в системе оксида азота и циклических нуклеотидов. Согласно полученным данным при хронической гипериммунокомплексемии наблюдается повышение суммарной активности NOS в ткани печени. При этом в активности ее изоформ наблюдаются разнонаправленные сдвиги: активность iNOS возрастает, а cNOS -

снижается, что обуславливает снижение показателя их соотношения. В моноцитах и эндотелиоцитах суммарная активность NOS не изменилась. При этом ее изоформы претерпели существенных изменений, аналогичных к таким, как в ткани печени: активность iNOS увеличилась, а cNOS – снизилась. При данном патологическом процессе наблюдаются также нарушения в содержании стабильных метаболитов NO и концентрации ЦН во всех исследуемых тест-объектах. В ткани печени и эндотелиоцитах уровень NO_2^- и NO_3^- снизился, снизилась и концентрация цАМФ и цГМФ. В то же время в моноцитах содержание NO_2^- и концентрация цГМФ резко увеличились, а NO_3^- и цАМФ – снизились. Несмотря на повышение уровня NO_2^- в моноцитах суммарное содержание стабильных метаболитов в этих клетках при иммунокомплексной патологии также снизилось. Это свидетельствует о том, что в условиях развития воспалительного процесса в стенке сосудов микроциркуляторного русла печени и аорты при хронической персистенции циркулирующих иммунных комплексов может наблюдаться усиленное использование NO с образованием пероксинитрита. Повышение активности iNOS сопровождалось деструктивными изменениями в тканях печени, моноцитах и эндотелиоцитах. Применение корвитина при смоделированном патологическом процессе нормализует показатели системы NO в основном за счет ингибирования активности iNOS и повышения активности cNOS. Одновременно нормализуется содержание NO_3^- в печени и моноцитах и NO_2^- в эндотелиоцитах. Со стороны NO_2^- в печени и моноцитах наблюдается тенденция к нормализации. Уровень NO_3^- в эндотелиоцитах при этом увеличивается, значительно превышая его показатели у интактных животных. Параллельно отмечено нормализацию содержания циклических нуклеотидов. Введение корвитина животным с хроническим гипериммунокомплексным процессом сопровождалось положительными изменениями и ультраструктуры печени, моноцитов и эндотелиоцитов. Наблюдается нормализация стенки синусоидных гемокапилляров печени. Восстанавливается оптимальное состояние клеточных и неклеточных структур синусоидных гемокапилляров. Наблюдается нормализация ультраструктуры моноцитов и эндотелиоцитов с восстановлением цитоплазматических и ядерных мембран. Результаты проведенных экспериментов раскрывают ранее неизвестные механизмы патологических изменений в печени, моноцитах и эндотелиоцитах при хронической гипериммунокомплексемии, а также углубляют понимание патогенеза иммунокомплексной патологии. Полученные данные позволяют оценить участие в развитии нарушений при хронической персистенции циркулирующих иммунных комплексов системы оксида азота и циклических нуклеотидов. Результаты исследований свидетельствуют о том, что корвитин нормализует показатели этих систем, проявляя противовоспалительный, цитопротекторный и эндотелийстабилизирующий эффекты, что обосновывает целесообразность методических разработок для применения корвитина в терапии иммунокомплексных заболеваний.

Ключевые слова: хроническая гипериммунокомплексемия, оксид азота, циклические нуклеотиды, печень, моноциты, эндотелиоциты, корвитин.

SUMMARY

Kachmarska M.O. NO-dependent processes in liver and their connection with monocyta-endothelial associations, in chronic hyperimmunocomplexemia. – Manuscript.

The dissertation for obtaining the scientific degree of candidate of medical sciences on speciality 14.03.04 – pathological physiology. – Ternopil state medical university named after I.Ya. Gorbachevskyi MHP of Ukraine. Ternopil, 2005.

The dissertation work is devoted to study of NO and cyclic nucleotides role – in development of chronic hyperimmunocomplex process. In experiments on white male-rates the indexes of Nitrogen oxide system (iNOS – cNOS activity, NO_2^- and NO_3^- content) and of cyclic nucleotides (cAMP and cGMP) – in liver, monocytes and endotheliocytes – in chronic hyperimmunocomplexemia and its correction by corvitrine. Paralelly in these conditions the ultrastructural changes of investigated test-objects were studied. According to the received data – in chronic hyperimmunocomplex process observed was a considerable increase of iNOS activity and decrease of cNOS activity. Simultaneously with revealed changes in fermentative activity it was marked the lowering of stable metabolites NO_2^- and NO_3^- sum, and of cAMP and cGMP levels – in all investigated test-objects. The iNOS activity increase was accompanied by destructive changes in tissues of liver, monocytes and endotheliocytes. Corvitrine application in the modelled pathological process – normalizes NO system, in the investigated test-objects – mainly by means of iNOS activity inhibition and cNOS activation. Simultaneously – NO_3^- content was normalized in liver and monocytes and NO_2^- content was normalized in endotheliocytes. NO_3^- level in endotheliocytes – is increased, considerably prevailing this index in intact animals. There was also marked the normalisation of content and of cyclic nucleotides. Changes in Nitrogen oxide system and in cyclic nucleotides system, in corvitrine injection – were accompanied by positive changes of ultrastructure of liver, monocytes and endotheliocytes. The received data testify, that corvitrine normalizes the investigated indexes, showing the anti-inflammatory, cytoprotective and endothelium-stabilisation effects.

Key words: nitrogen oxide, cyclic nucleotides, chronic hyperimmunocomplexemia, liver, monocytes, endotheliocytes, corvitrine.