

Г. М. Кузнєцова, Т. А. Воловненко, Г. В. Островська,
Ю. М. Воловенко, В. К. Рибальченко

Вплив цитостатика похідного дигідропіролу на слизову оболонку кишечника щурів на тлі оксидативного стресу

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. Ю. Євтушенком)

Досліджено вплив цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу (Д1) на слизову оболонку різних відділів кишечника щурів окремо та на тлі дії оксидативного стресу. Показано відсутність пригнічення проліферації клітин крипт при дії Д1 окремо, а також зменшення під впливом даної сполуки токсичної дії оксидативного стресу в усіх відділах кишечника.

На сьогодні проблема пошуку ефективних, малотоксичних і специфічних щодо малігнізованих клітин препаратів є надзвичайно актуальною. Не менш важливим є дослідження якомога більш ранніх етапів пухлинного переродження для максимальної успішності терапії [1–3]. Відомо, що оксидативний стрес, який є наслідком порушення рівноваги між процесами окиснення і відновлення, супроводжує всі етапи канцерогенезу [4]. Тому нашою метою було дослідження впливу похідного дигідропіролу (1,4-заміщений 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (Д1)), що показав високу антипроліферативну активність на 60 пухлинних клітинних лініях [5], на слизову оболонку кишечника щурів як швидкопроліферуючу тканину в стані оксидативного стресу.

Дослідження проводили на 38 білих безпородних щурах-самцях з масою тіла 270 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Д1 у дозі 2,3 мг/кг маси тіла (що за умов повного всмоктування створює концентрацію його в крові 10^{-4} М [5]) розчиняли в олії, що містила 15% ДМСО, оксидативний стрес викликали хлоридом кобальту (II) [6] у дозі 13 мг/кг маси тіла ($1/3$ LD₅₀), розчиненим у фізіологічному розчині. Речовини вводили в об'ємі 0,1 мл щодобово протягом 10 діб, розчин Д1 і відповідний розчинник — per os, розчин CoCl₂ · 6H₂O і фізрозчин — внутрішньоочеревинно. Щури отримували: група контролю — олію з 15% ДМСО і фізрозчин; група Д1 — розчин Д1 і фізрозчин; група CoCl₂ — олію з 15% ДМСО і розчин CoCl₂; група CoCl₂ + Д1 — розчин Д1 і розчин CoCl₂. Через 1 добу після останнього введення тварин забивали під ефірним наркозом.

Для гістологічного аналізу використовували шматочки порожньої, ободової, прямої кишки, фіксовані у 10% нейтральному сольовому формаліні. Виготовлення постійних препаратів для світлової мікроскопії і їх забарвлення гематоксилін-еозин-оранжем здійснювали за стандартною методикою [7]. Оцінювали архітектоніку та стан судинного русла слизової оболонки на поперечному зрізі, також вимірювали в препаратах порожньої кишки: товщину слизової оболонки, довжину і товщину ворсинок, глибину крипт, товщину строми ворсинки, параметри епітеліальної вистілки ворсинки (висоту епітеліального шару, площу перетину ядер епітеліоцитів, площу перетину келихоподібних клітин, відносну кількість келихоподібних клітин на латеральній поверхні ворсинки), мітотичний індекс у криптах; у препаратах ободової та прямої кишки: товщину слизової оболонки, глибину та ширину крипт, параметри епітеліальної вистілки, відносну кількість біфуркаційних крипт, мітотичний індекс.

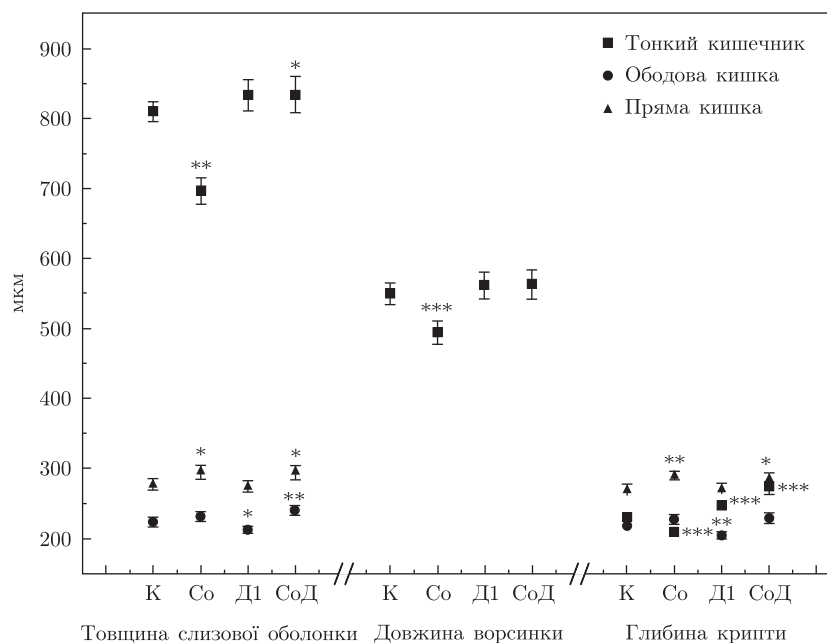


Рис. 1. Товщина слизової оболонки, довжина ворсинки, глибина крипти слизової оболонки кишечника щурів, що отримували D1, CoCl_2 та їх комбінацію (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми SPSS 10.0, результат виражали у вигляді середнього значення (M) і похибки середнього (m) для певної вибірки.

У групі D1 ворсинки слизової оболонки порожньої кишки (тонкий кишечник) іноді розширені, з дещо збільшеним кровонаповненням, інфільтрацією стромы лімфоцитами, а також десквамацією епітелію у верхній частині, хоча зустрічаються і ворсинки без патологічних змін. Незначні осередки запалення спостерігаються рідко. Слизова оболонка ободової і прямої кишки нормальної будови, наближається до контролю. Має місце деяка лімфоінфільтрація власної пластинки, невеликі скупчення лімфоцитів у верхній частині слизової обох відділів товстого кишечника, крім того, поодинокі лімфостази у прямій кишці. Порівняно з контролем у слизовій оболонці тонкого кишечника вірогідно зростають глибина крипт, товщина ворсинок і їх стромы, площа перетину ядер епітеліоцитів, відносна кількість і площа перетину келихоподібних клітин (рис. 1–4). У слизовій оболонці ободової кишки, на відміну від тонкого кишечника, вірогідно зменшуються глибина крипт, висота епітеліоцитів і площа перетину їх ядер, площа перетину і відносна кількість келихоподібних клітин (див. рис. 1–4). У прямій кишці вірогідно зменшуються ширина крипти і площа перетину ядер епітеліоцитів (див. рис. 1–4).

На препаратах групи з Co-індукованим стресом у слизовій оболонці тонкого кишечника відмічається розширення ворсинок, спричинене набряком стромы, її інфільтрацією лімфоцитами, кровостазамы. Часто зустрічаються осередки запалення. У слизовій оболонці товстого кишечника спостерігається значне збільшення лімфовузлів, лімфоінфільтрація власної пластинки, осередки запалення, у прямій кишці — також кровостазы і лімфостази. Порівняно з контролем у тонкому кишечнику вірогідно зменшуються товщина слизової оболонки, довжина ворсинок, глибина крипт, мітотичний індекс, вірогідно збільшуються товщина ворсинок і їх стромы, висота епітеліоцитів і площа перетину їх ядер (див. рис. 1–4). У слизовій оболонці ободової кишки вірогідно зменшуються ширина крипт, висота епітеліо-

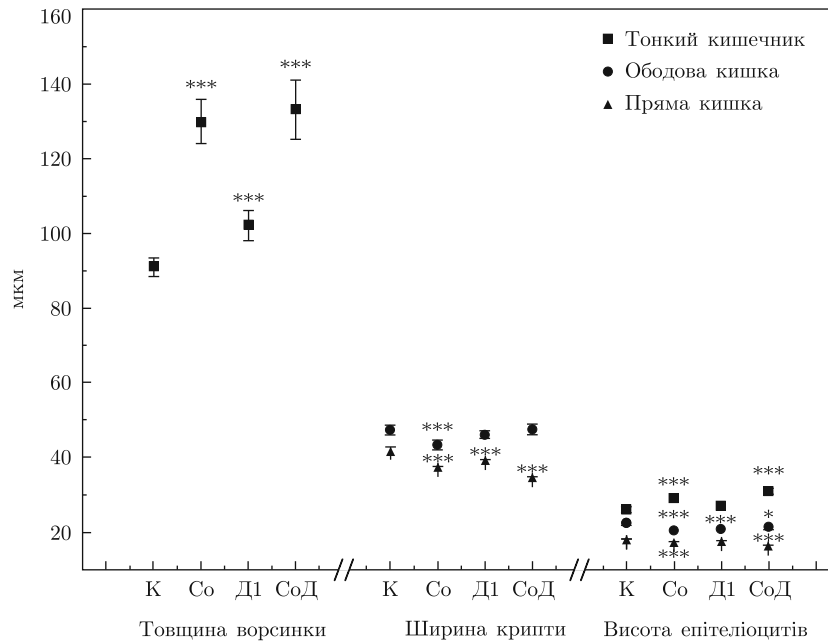


Рис. 2. Товщина ворсинки, ширина крипти, висота епітеліоцитів слизової оболонки кишечника щурів, що отримували Д1, CoCl_2 та їх комбінацію (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

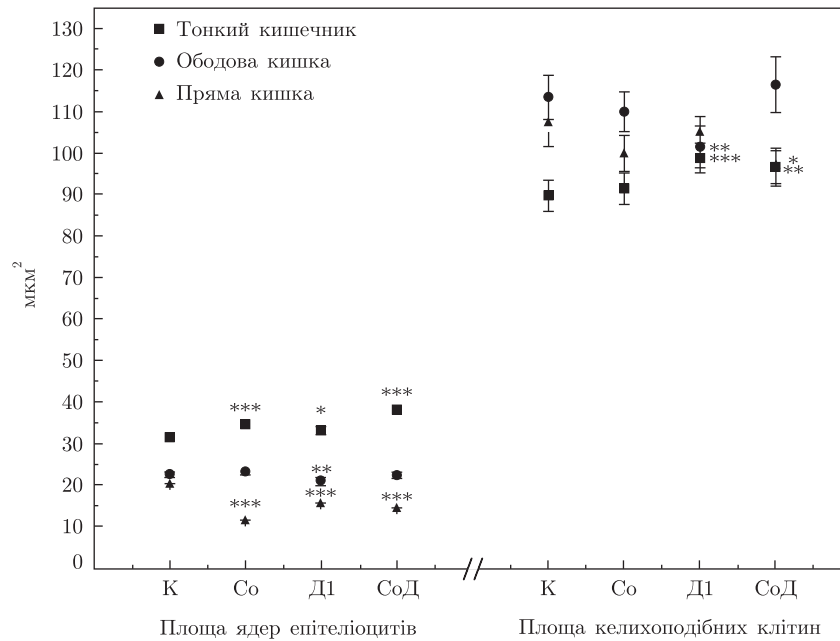


Рис. 3. Площа перетину ядер епітеліоцитів, келихоподібних клітин слизової оболонки кишечника щурів, що отримували Д1, CoCl_2 та їх комбінацію (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

цитів, відносна кількість келихоподібних клітин, мітотичний індекс (див. рис. 1–4). У слизовій оболонці прямої кишки також вірогідно зменшуються ширина крипт, висота епітеліоцитів, площа перетину їх ядер і, на відміну від попередніх відділів кишечника, збільшуються товщина слизової оболонки та глибина крипт (див. рис. 1–4).

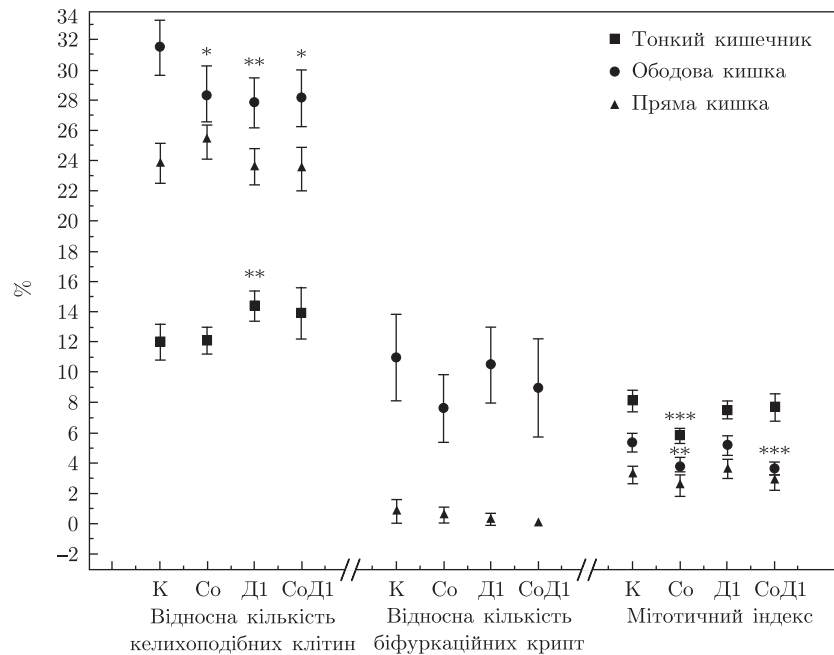


Рис. 4. Відносна кількість келихоподібних клітин, біфуркаційних крипт, мітотичний індекс слизової оболонки кишечника щурів, що отримували D1, CoCl₂ та їх комбінацію (**p* < 0,05, ***p* < 0,01, ****p* < 0,001)

На препаратах групи CoCl₂ + D1 у слизовій оболонці тонкого кишечника ворсинки здебільшого нормальні, з цілісним епітелієм, хоча подекуди спостерігаються невеликі зони запалення, лімфоінфільтрація, злиття і руйнування ворсинок. Слизова оболонка товстого кишечника наближається до контролю. Іноді зустрічається незначна лімфоінфільтрація, деяке збільшення лімфовузлів, а також поодинокі крово- і лімфостазис в прямій кишці. Порівняно з контролем у тонкому кишечнику вірогідно збільшуються товщина слизової оболонки і глибина крипт, що вірогідно вище за показники групи CoCl₂, товщина ворсинок і товщина стромы ворсинок, що на рівні показників групи CoCl₂, висота епітеліоцитів, площа перетину їх ядер і площа келихоподібних клітин, що також вірогідно вище за показники групи CoCl₂ (див. рис. 1–4). У слизовій оболонці ободової кишки має місце вірогідне порівняно з контролем збільшення товщини слизової оболонки, збільшення порівняно з групою CoCl₂ ширини крипт, зменшення висоти епітеліоцитів, яка, однак, вірогідно вища за таку в групі CoCl₂, відносної кількості келихоподібних клітин, зниження мітотичного індексу (див. рис. 1–4). У слизовій оболонці прямої кишки вірогідно збільшуються товщина слизової оболонки і глибина крипт, вірогідно зменшуються ширина крипти і висота епітеліоцитів, що вірогідно менше також і за показники групи CoCl₂, площа перетину ядер епітеліоцитів, яка, однак, вірогідно більша за таку в групі CoCl₂, площа перетину келихоподібних клітин (див. рис. 1–4).

Таким чином, D1 впливає в основному на епітелій ворсинок слизової оболонки кишечника щурів, що проявляється в його десквамації в тонкому кишечнику, пригніченні функціональної активності (абсорбції і слизоутворення) у відділах товстого кишечника. D1 не викликає значних змін у судинному руслі слизової, не пригнічує нормальну проліферацію клітин у криптах. Компенсаторно-приспосувальні реакції організму у вигляді посилення слизоутворення [8] спостерігаються при дії даної сполуки в тонкому кишечнику. CoCl₂, ін-

дукуючи оксидативний стрес, викликає запалення, пошкодження капілярного русла, пригнічення проліферації стовбурових клітин крипт слизової оболонки усіх відділів кишечника [9], спричиняє зниження її функціональної активності в товстому кишечнику як наслідок пригнічення оновлення клітин епітеліального шару. Д1 при дії на слизову оболонку кишечника на тлі оксидативного стресу дещо нівелює токсичний вплив останнього за рахунок зниження рівня запального процесу і активізації компенсаторно-приспосувальних реакцій організму в усіх відділах, нормалізації проліферативної активності клітин крипт у тонкому кишечнику. Також варто відзначити вираженість компенсаторних процесів у тонкому кишечнику, на відміну від товстого, де домінують пригнічуючі ефекти.

1. *Dancey J., Sausville E. A.* Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment // *Nature Rev. Drug Discovery.* – 2003. – **2**, No 4. – P. 296–313.
2. *Телетаева Г. М.* Профилактика и лечение желудочно-кишечных осложнений лекарственной терапии (тошнота и рвота, мукозиты, диарея) // *Практическая онкология.* – 2009. – **10**, № 3. – С. 158–167.
3. *Олійниченко П. И., Булжина З. П., Синиборода Т. И.* Справочник по полихимиотерапии опухолей. – Киев: Здоровье, 2000. – 301 с.
4. *Klaunig J. E., Kamendulis L. M.* The role of oxidative stress in carcinogenesis // *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* – 2004. – **44**. – P. 239–267.
5. *Пат. № 22204 Україна.* Сполука 1,4-заміщених 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-онів, що має протиракову активність / Г. Г. Дубініна, Ю. М. Воловенко – Оубл. 25.04.2007.
6. *Філінська О. М., Яблонська С. В., Островська Г. В., Рыбальченко Т. В., Рыбальченко В. К.* Вплив похідного малеїміду на стан антиоксидантної системи печінки щурів за умов оксидативного стресу // *Доп. НАН України.* – 2009. – № 8. – С. 179–183.
7. *Лилли Р.* Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – Москва: Мир, 1969. – 648 с.
8. *Парфенов А. И.* Энтерология. – Москва: Триада-Х, 2002. – 744 с.
9. *Кондакова И. В., Какурина Г. В., Смирнова Л. П., Борунов Е. В.* Регуляция пролиферации и апоптоза опухолевых клеток свободными радикалами // *Сиб. онкол. журн.* – 2005. – **13**, № 1. – С. 58–61.

*Навчально-науковий центр “Інститут біології”
Київського національного університету
ім. Тараса Шевченка*

Надійшло до редакції 31.05.2011

**Г. Н. Кузнецова, Т. А. Воловненко, Г. В. Островская, Ю. М. Воловенко,
В. К. Рыбальченко**

Влияние цитостатика производного дигидропиррола на слизистую оболочку кишечника крыс на фоне окислительного стресса

Исследовано влияние цитостатического соединения производного дигидропиррола (Д1) на слизистую оболочку различных отделов кишечника отдельно и на фоне действия окислительного стресса. Показано отсутствие угнетения пролиферации клеток крипт при действии Д1 отдельно, а также уменьшение под влиянием данного соединения токсического воздействия окислительного стресса во всех отделах кишечника.

G. M. Kuznyetsova, T. A. Volovnenko, G. V. Ostrovska, Yu. M. Volovenko,
V. K. Rybalchenko

**The influence of cytostatic compound dihydropyrrol derivative on rat
bowel tunica mucosa under oxidative stress condition**

The influence of cytostatic compound dihydropyrrol derivative (D1) on rat bowel tunica mucosa alone and under oxidative stress condition is investigated. The absence of krypt cells proliferation depression and the oxidative stress toxic action decrease in all parts of bowel are observed.