

**МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ ПЕРЕБУДОВИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА
ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ДІЇ ЦИКЛОФОСФАМІДУ
У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ****Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова****(м. Вінниця)****visichko@gmail.com**

Робота виконана у рамках НДР «Патогенез та патоморфоз захворювань шлунково-кишкового тракту, сечостатевої, нейроендокринної та імунної систем», ДРН_№ 0111U010551.

Вступ. Частим ускладненням використання лікарських засобів є дисфункція травної трубки [3, 4]. Циклофосфамід входить до протоколів МОЗ України та застосовується при лікуванні онкологічної патології та ряду інших захворювань. Разом з тим, він проявляє і токсичні властивості. Головним напрямком пошуку препаратів, що здатні знівелювати таку побічну дію циклофосфаміду, є можливість впливу на причину ускладнення. Вивченню структурних змін у органах-мішенях за умов дії циклофосфаміду приділена значна увага дослідників [1, 2, 5, 6, 7, 8]. Найменш вивчені структурні зміни органів на віддалених термінах, які обумовлюють клінічну картину важких патологій та, як наслідок, зниження якості життя хворих, але не завжди пов'язуються з попереднім застосуванням цитостатичного засобу. Не зважаючи на те, що пошкоджуюча дія циклофосфаміду на стінку тонкої кишки відома давно, ряд питань, зокрема, вивчення перебудови мікроциркуляторного русла тонкої кишки у віддалених термінах, залишаються відкритими та потребують вирішення для коректного пошуку модифікаторів токсичності.

Мета дослідження – встановити структурні зміни мікроциркуляторного русла оболонки стінки тонкої кишки в умовах дії циклофосфаміду у віддалені терміни.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єкт дослідження – компенсаторно-приспосувальні морфологічні зміни мікроциркуляторного русла стінки тонкої кишки щурів при дії циклофосфаміду.

Експеримент проведено на 27-ми статевозрілих білих безпородних щурах обох статей, які утримувалися на звичайному раціоні у віварії (з попереднім двохтижневим карантинном). Утримання тварин та експерименти проводилися відповідно до положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментів та інших наукових цілей» (Страсбург, 1985), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Дев'ять тварин – контрольна група (К). 18-ти тваринам одноразово внутрішньоочеревинно вводили циклофосфамід з розрахунку 1270 мг/кг (для отримання ізоефективної дози для цього виду експериментальних тварин). Щури були розділені на дві групи по 9 щурів у кожній. Виведення з експерименту здійснено згідно вимогам до евтаназії передозуванням наркозу з кожної серії по 9 щурів через 7 та 30 діб після введення цитостатика. Для морфологічного дослідження зрізи тонкої кишки фарбували гематоксиліном і еозином. Морфометрично обраховували питому вагу кровоносних та лімфатичних судин, інтерстиційних просторів та клітин та міжклітинної речовини у слизовій, підслизовій та м'язовій оболонці. Морфометричний аналіз проводили із застосуванням пакету програм «Promorph Paradise». Статистична обробка отриманих результатів проведена в пакеті програм «STATISTICA 5.5» з використанням параметричних методів дослідження. Увагу приділяли показникам, різниця величин яких була достовірною ($p < 0,05$).

Результати досліджень та їх обговорення. Через сім діб після одноразового введення циклофосфаміду у слизовій оболонці тонкої кишки ми спостерігали морфологічні прояви набряку. Кровоносні капіляри, зокрема, веноулярної ланки власної пластинки слизової оболонки були вогнищево ширші, порівняно з такими у групі контролю, це явище спостерігалось до верхніх частин фіброваскулярних стрижнів. Були присутні ділянки кровоносних капілярів й з меншою площею поперечного перерізу. Лімфатичні судини мали більшу площу поперечного перерізу, порівняно з контрольною групою щурів; відносна площа їх ($10,4 \pm 1,12\%$) була більшою ($p < 0,05$) на 88%, ніж у контролі ($5,53 \pm 0,81\%$) (**табл.**). Ширина інтерстиційних просторів була значно більшою за таку у групі контролю та відносна площа їх ($6,91 \pm 0,87\%$) виявилася більшою ($p < 0,05$) у 2,1 рази, ніж у контролі ($3,29 \pm 0,89\%$) (**табл.**).

Через сім діб після одноразового введення циклофосфаміду інфільтрація власної пластинки слизової оболонки носила яскраво виражений вогнищевий характер (**рис. 1**). Було відзначено згасання інтенсивності проявів набряку у підслизовій основі, але подекуди його прояви були досить активні з розкуйовдженням тканини та вакуольною дистрофією (**рис. 2**).

Таблиця

Результати морфометричного дослідження препаратів тонкої кишки контрольної групи щурів та під впливом одноразового введення циклофосфаміду

Анатомічна структура	Термін (доба)	Питома вага кровоносних судин (%)	Питома вага лімфатичних судин (%)	Питома вага інтерстиційних просторів (%)	Питома вага клітин та міжклітинної речовини (%)
Власна пластинка слизової оболонки	К	4,21±0,99	5,53±0,81	3,29±0,89	86,97±0,87
	7	2,38±0,93	10,4±1,12	6,91±0,87	80,31±1,26
	30	3,3±0,78	8,31±0,91	5,17±0,91	83,22±1,41
Підслизова основа	К	4,91±0,91	7,23±1,14	5,61±0,95	82,25±1,74
	7	8,89±1,06	20,23±0,94	17,2±1,04	53,68±2,65
	30	6,23±0,99	15,7±2,09	10,3±1,78	67,77±1,69
М'язова оболонка	К	1,58±0,81	2,07±0,71	3,12±0,57	93,23±1,54
	7	3,13±1,23	4,43±0,99	5,67±0,24	86,72±1,33
	30	3,26±0,81	3,59±1,26	4,08±1,43	89,07±1,14

Кровоносні судини були повнокровні та мали мо- заїчні розміри. Візуально лімфатичні капіляри мали широкі площі поперечного перерізу.

При статистичному аналізі отриманих даних пи- тома вага лімфатичних судин (20,23±0,94%) вияви- лася у 2,7 рази більшою (p<0,05) за таку у контролі (7,23±1,14%).

Інтерстиційні простори були значно та рівномірно розширені. Питома вага кровоносних судин незначно була меншою, ніж цей показник у контролі, за рахунок більшої питомої ваги інтерстиційних просторів. Прогре- сування запальної реакції сприяє розширенню капі- лярів венулярного ланцюга і обумовлює інфільтрацію строми слизової оболонки порожньої кишки. При під- рахунках питома вага їх (17,2±1,04%) була у 3 рази більшою (p<0,05) за цей показник у контрольній групі тварин (5,61±0,95%) (табл.).

У м'язовому шарі порожньої кишки щурів через сім дів після введення циклофосфаміду була відмічена загальна тенденція до меншої інтенсивності проявів набряку. Кровоносні капіляри були делятовані, але вогнищево й незначно. Інтерстиційні простори були помітно та рівномірно розширені.

Лімфатичні капіляри були розширені, та питома вага їх (4,43±0,99%) ще залишалася більшою (p<0,05) за таку у контрольній групі щурів (2,07±0,71%) у 2,1 рази (табл.).

Власна пластинка слизової оболонки до 30-ї доби спостереження мала всі морфологічні ознаки набряку, прояви його були достатньо активні, що підтвердило- ся статистично. Запальна інфільтрація з'являлася у вигляді яскравозабарвлених осередків щільнорозта- шованих елементів. Кровоносні судини здебільшого були повнокровні та звужені. Лімфатичні судини - роз- ширені. Питома вага їх (8,31±0,91%) на 30 добу спо- стереження залишалася більшою (p<0,05), ніж в групі контролю (5,53±0,81%) на 50%. Інтерстиційні про- стори були незначно меншими за шириною, та від- носна площа їх (5,17±0,91%) ще значно (на 57,1%) різнилися (p<0,05) від цього показника у контрольній групі щурів (3,29±0,89%) (табл.).

У підслизовій основі ми також спостерігали морфологічні озна- ки набряку, але менш виражені у порівнянні з групою попереднього терміну дослідження. Ми визна- чали помірну інфільтрацію пооди- нокими еозинофілами. Венулярні судини були вогнищево розшире- ні, артеріолярні - місцями звужені (рис. 3, табл.).

Лімфатичні судини були рів- номірно розширені. Питома вага лімфатичних судин (15,7±2,09%) була меншою (p<0,05) відносно такої у групі попереднього терміну (20,23±0,94%) на 22,3%. Але цей показник залишався ще набагато (у 2,2 рази) меншим (p<0,05) за такий у контрольній групі тварин (7,23±1,14%).

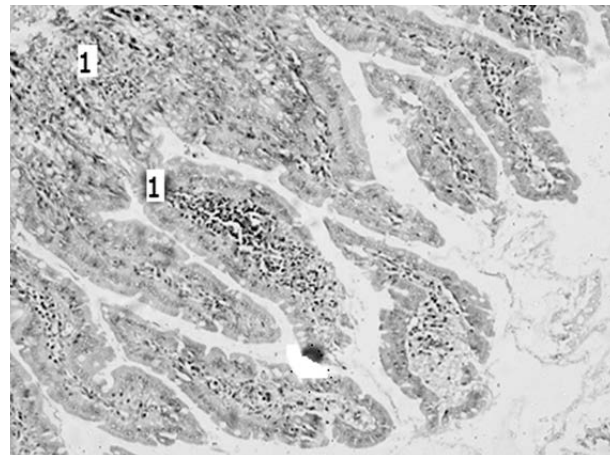


Рис. 1. Інфільтрація лімфоцитами (1), поодинокими еозинофілами. Власна пластинка слизової оболонки щурів через сім дів після одноразового введення циклофосфаміду. Гематоксилін-еозин. Збільшення x200.

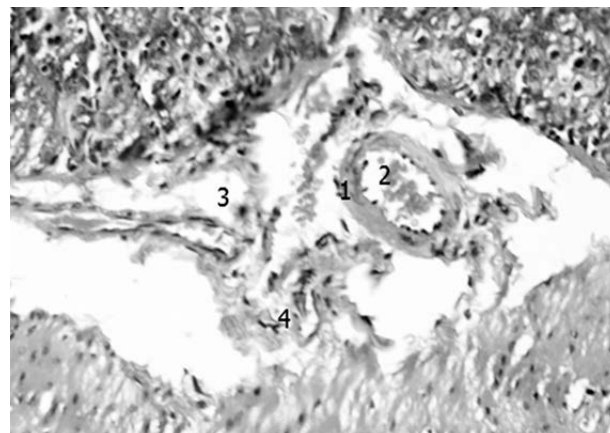


Рис. 2. Набряк, розширені судини мікроциркуляторного русла (1), стаз (2), розкуйовджені тканини (3), вакуольна дистрофія (4). Підслизова основа порожньої кишки щурів через сім дів після одноразового введення циклофосфаміду. Гематоксилін-еозин. Збільшення x200.

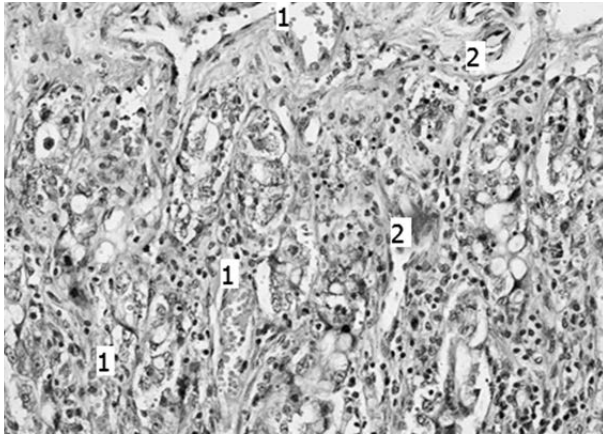


Рис. 3. Розширені кровоносні (1) та лімфатичні (2) судини слизової оболонки та підслизової основи порожньої кишки щурів через 30 діб після одноразового введення циклофосфаміду. Гематоксилін-еозин. Збільшення x400.

Значно меншими за шириною були інтерстиційні простори, питома вага їх ($10,3 \pm 1,78\%$) була меншою ($p < 0,05$) у порівнянні з попереднім терміном спостереження ($17,2 \pm 1,04\%$) на $40,1\%$, та була в 1,8 рази більшою ($p < 0,05$) по відношенню до значень контрольної групи ($5,61 \pm 0,95\%$) (табл.).

При вивченні м'язового шару ми відзначили наявність ознак набряку, які були менш інтенсивні, ніж такі у групі попереднього терміну. Кровоносні судини були повнокровні, артеріоли – місцями звужені. Лімфатичні судини незначно були меншими за шириною та не досягли розмірів контрольної групи щурів. Були помітно меншими інтерстиційні простори та все ж таки площа

їх не була відновлена (табл. 1). Необхідно відмітити, що жоден з обрахованих показників м'язової оболонки на мав достовірної різниці з відповідними показниками контрольної групи тварин.

Висновки.

1. На 7 та 30 добу після одноразового введення циклофосфаміду в слизовій оболонці, підслизовій основі та м'язовому шарі тонкої кишки щурів відмічені розширені лімфатичні судини та інтерстиційні простори, мозаїчні площі кровоносних судин, перерозподіл крові у венулярну ланку. На тридцятую добу структура та значення питомої ваги складових компонентів мікроциркуляторного русла власної пластинки слизової оболонки та підслизового шару не відновлюються.

2. Структурні зміни мікроциркуляторного русла, що наявні на віддалених термінах після введення циклофосфаміду, здатні погіршувати клінічні прояви побічної дії цитостатика на активнопроліферуючі тканини тонкої кишки та обумовлюють клінічну картину дисфункції органу.

3. Для коректного пошуку модифікаторів токсичності циклофосфаміду необхідно враховувати важливість здатності препаратів вибору впливу на покращення мікроциркуляції та на стимуляцію відновлення структури мікроциркуляторного русла, разом у тонкій кишці.

Перспективи подальших досліджень. Отримані дані, щодо впливу циклофосфаміду на перебудову мікроциркуляторного русла та термінів її наявності, можуть бути застосовані при подальшому пошуку модифікаторів токсичності циклофосфаміду. У якості препаратів вибору необхідно досліджувати препарати, що мають впливу на стимуляцію відновлення мікроциркуляції.

Література

1. Влияние препаратов с противоопухолевой активностью – доксорубицина и циклофосфана – на структурную реорганизацию миокарда крыс и численность кардиомиоцитов / Л. М. Непомнящих, Е. Л. Лушникова, М. Г. Клиникова [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 4 (46). – С. 30-35.
2. Коваленко А. Л. Ремаксол – препарат для восстановления системы антиоксидантной защиты при поражении печени циклофосфаном в эксперименте / А. Л. Коваленко, А. Ю. Петров, Д. С. Суханов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т. 74, № 1. – С. 32-35.
3. Королева И. А. Профилактика и лечение острой и хронической гепатотоксичности у больных, перенесших комбинированное и комплексное лечение по поводу рака молочной железы / И. А. Королева, Л. З. Вельшер, А. Н. Казюлин // Паллиативная медицина и реабилитация. – 2011. – № 1. – С. 15-19.
4. Назарова Л. Е. Исследование цитопротекторной активности кислоты феруловой : автореф. дисс. на соискание научной степени доктора фарм. наук : спец. 14. 03. 06 «Фармакология, клиническая фармакология» / Л. Е. Назарова. – Петригорск, 2012. – 48 с.
5. Пространственная реорганизация гепатоцитов при действии циклофосфамида / О. П. Молодых, Е. Л. Лушникова, Л. М. Непомнящих [и др.] // Fundamental Research. – 2011. – № 10. – С. 324-328.
6. Cyclophosphamide mechanism of action in preclinical tecemotide studies / K. Hance, R. Tighe, J. Qi [et al.] // Journal for Immunotherapy of Cancer. – 2013. – Vol. 1, (Suppl 1). – P. 75.
7. Liu S. Action Mechanism of Fuzheng Fangai Pill Combined with Cyclophosphamide on Tumor Metastasis and Growth / S. Liu, X. Wang, G. Yang // Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. – 2014. - Vol. 2014, №8. – P. 11.
8. Protective effects of pine bark extract on developmental toxicity of cyclophosphamide in rats / S. Kim, C. Lee, H. Lim [et al.] // Food Chemical Toxicology. – 2012. – № 50. – P. 109-115.

УДК 615. 277. 3:599. 323. 4:591. 434

МОРФОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ ПЕРЕБУДОВИ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ДІЇ ЦИКЛОФОСФАМІДУ У ВІДДАЛЕНІ ТЕРМІНИ

Бондарчук Г. О.

Резюме. Дослідження морфологічних ознак перебудови мікроциркуляторного русла тонкої кишки щурів під впливом циклофосфаміду у віддалені терміни проведені на 27 щурах, яким одноразово внутрішньоочередовно вводили циклофосфамід, після чого у зрізах тонкої кишки, забарвлених гематоксилином та еозином,

морфометрично обраховували питому вагу кровоносних та лімфатичних судин, інтерстиційних просторів та клітин з міжклітинною рідиною у терміни 7 та 30 днів. Статистично доведено, що складові мікроциркуляторного русла не сягають контрольних значень питомої ваги до тридцятої доби дослідження.

Ключові слова: тонка кишка, циклофосфамід, мікроциркуляторне русло.

УДК 615. 277. 3:599. 323. 4:591. 434

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ПЕРЕСТРОЙКИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛОФОСФАМИДА В ОТДАЛЕННЫЕ СРОКИ

Бондарчук А. О.

Резюме. Исследование морфологических признаков перестройки микроциркуляторного русла тонкой кишки крыс под влиянием циклофосфамида в отдаленные сроки проведены на 27 крысах, которым однократно внутривентриально вводили циклофосфамид, после чего в срезах тонкой кишки, окрашенных гематоксилином и эозином, морфометрически определяли удельный вес кровеносных и лимфатических сосудов, интерстициальных пространств и клеток с межклеточным веществом на 7 и 30 сутки. Статистически доказано, что составляющие микроциркуляторного русла не достигают контрольных значений удельного веса на тридцатые сутки исследования.

Ключевые слова: тонкая кишка, циклофосфамид, микроциркуляторное русло.

UDC 615. 277. 3:599. 323. 4:591. 434

Morphological Features of Restructuring the Microvasculature of Rat Small Intestine under the Action of Cyclophosphamide in the Remote Terms

Bondarchuk A. O.

Abstract. The study of morphological characters restructuring microvasculature of the small intestine of rats under the influence of cyclophosphamide in the long-term period conducted on 27 rats that were injected intraperitoneally with a single dose of cyclophosphamide, followed in the sections of the small intestine colored with hematoxylin and eosin, morphometrically determined the proportion of blood and lymph vessels, interstitial spaces and cell intercellular substance a 7 and 30 days after. Statistically proven that the components of the microvasculature is not reach control of the specific gravity on the thirtieth day of examination.

The aim of the study was to establish the structural changes of microcirculatory bed of small intestine wall in terms of cyclophosphamide in the later periods.

Object of study – the compensatory-adaptive morphological changes of microcirculatory bed of the small intestine of rats under the action of cyclophosphamide.

The experiment was conducted on the 27 mature white purebred rats of both sexes, who were kept on a normal diet in the vivarium. Nine animals – control group. 18 animals were injected by cyclophosphamide intraperitoneally once (1270 mg / kg).

The rats were divided into two groups of 9 rats in each. Withdrawal from the experiment was conducted by an overdose of anesthesia, 9 rats from each series after 7 and 30 days after injection of of cytostatic. For morphological studies of the small intestine sections were colored with hematoxylin and eosin. Share of blood and lymphatic vessels, interstitial spaces and cells and intercellular substance in the mucosa, submucosa and muscular coat were morphometrically measured. The attention paid to parameters, which values of the difference was significant ($p < 0.05$).

At 7 and 30 days after a single injection of cyclophosphamide in the mucosa, submucosa and muscular layer on the small intestine of rats dilated lymphatics and Interstitial spaces mosaic area of blood vessels, blood redistribution in venous link were marked. On the thirtieth day structure and value of share of components of microvasculature of lamina propria of mucosa and submucosa are not restored.

Structural changes in the microvasculature that are on remote periods after injection of cyclophosphamide, are able to degrade clinical signs of side effects of cytostatic actively proliferative tissue of the small intestine and cause clinical picture of dysfunction body.

For correct searching of modifiers of cyclophosphamide toxicity that must be considered the importance of the ability to influence of drugs of choice to improve circulation and stimulate restore of structure of microcirculation, at the same time in the small intestine.

The data regarding of cyclophosphamide action to restructuring of microvasculature and terms of its presence, can be used to further search of modifiers of cyclophosphamide toxicity. As the drugs of choice should be investigated drugs that have effects on stimulation of microcirculation restore.

Keywords: small intestine, cyclophosphamide, microvasculature.

Рецензент – проф. Старченко І. І.

Стаття надійшла 03. 04. 2015 р.