

© Дзюбенко Н. В., Линчак О.В.

УДК 616.018: 612.335+57.044

**Дзюбенко Н. В., Линчак О.В.**

## ВПЛИВ ЦИТОСТАТИКА ПОХІДНОГО ДИГІДРОПІРОЛУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКУ ЩУРІВ НА ТЛІ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

Київський національний університет імені Т. Шевченка (м. Київ)

dziubenko@rambler.ru

Дана робота є фрагментом НДР Київського національного університету імені Тараса Шевченка «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій», № державної реєстрації 0111U004648.

**Вступ.** На сьогоднішній день 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 [10-13]. Запальний компонент присутній в мікросередовищі в більшості пухлинних тканинах, у тому числі й у тих, які не пов'язані із запальним процесом [6]. Шлунок, як відомо, є чутливим органом травної системи, який схильний до дії різних патогенів, що надходять з харчуванням. У відповідь на такі патогени, у шлунку виникає окислювальний стрес, який може бути пов'язаний з розвитком розладів шлунка, таких як гастрит, виразка, функціональна диспепсія, рак шлунку.

**Метою даної роботи** було дослідження впливу похідного дигідропіролу (1,4-заміщений 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он), далі Д1, що показав високу антипроліферативну активність на 60 пухлинних клітинних лініях [4,7-9], на слизову оболонку шлунку щурів у стані оксидативного стресу, викликаного хлоридом кобальту.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження проведені відповідно до принципів біоетики, законодавчих норм та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Стразбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

Дослідження проводили на 26 статевозрілих нелінійних білих щурах-самцях з початковою масою 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 [4,7]) розчиняли в олії, що містить 15% ДМСО. Оксидативний стрес викликали хлоридом кобальту (II) у дозі 13 мг/кг маси тіла ( $1/3 LD_{50}$ ), розчиненим у фізіологічному розчині. Речовини вводилися в об'ємах 0,1 мл щоденно протягом 10 днів, розчин Д1 і відповідний розчинник – per os, розчин  $CoCl_2 \cdot 6H_2O$  і фізрозчин – внутрішньоочередивно. Щурі були поділені на такі експериментальні групи:

- контроль: олія + 15% ДМСО + фізрозчин;
- група Д1: розчин Д1 + фізрозчин;
- група  $CoCl_2$ : олія + 15% ДМСО + розчин  $CoCl_2$ ;
- група  $CoCl_2$  + Д1: розчин Д1 і розчин  $CoCl_2$ .

Через 1 добу після останнього введення тварин забивали під ефірним наркозом. Для гістологічного аналізу використовували фундальну частину шлунку, яку фіксували в рідині Буена протягом 14 діб. Для гістологічного аналізу виготовляли парафінові зрізи товщиною 5-7 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозином з дофарбуванням оранжем G і заключали в канадський бальзам [5]. Морфологічні дослідження проводили за допомогою світлового мікроскопу Axioskop40 з фотокамерою AxioCamCamMRc5 (KarlZeiss).

**Результати дослідження та їх обговорення.** У тварин контрольної групи слизова оболонка шлунку мала типову гістологічну структуру без ознак патологічних процесів [2,3]: м'язова та підслизова оболонки розвинені нормально, шлункові залози слизової оболонки розміщені компактно, клітинний склад і співвідношення головні: парієтальні клітини – в межах гістологічної норми (рис. 1).

У групі тварин, що отримували похідне дигідропіролу Д1 у дозі 2,3 мг/кг маси тіла морфологічні зміни шлункової стінки представлені помірним набряком підслизової оболонки та власної пластинки слизової

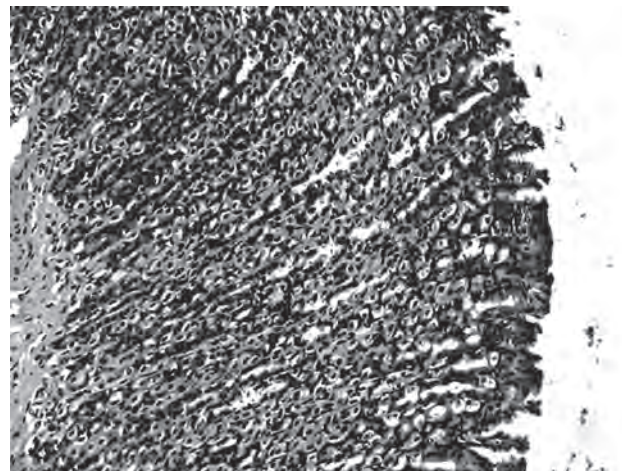


Рис. 1. Мікрофотографія зрізу фундального відділу шлунку щурів контрольної групи. Забарвлення гематоксилін-еозин-оранж, збільшення X200.

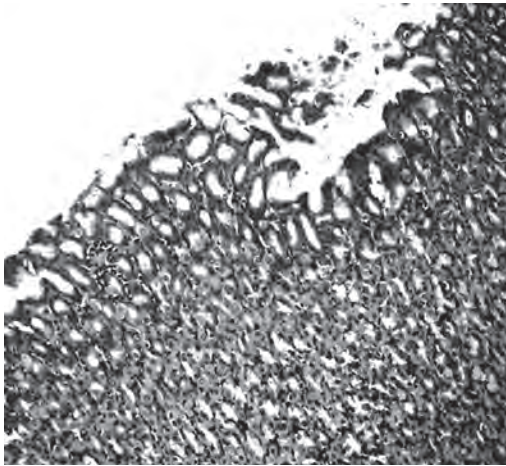


Рис. 2. Мікрофотографія зрізу фундального відділу шлунку щурів групи Д1. Запалення слизової оболонки у вигляді лімфоінфільтрації, та поверхневої деструкції залоз. Забарвлення гематоксилин-еозин-оранж, збільшення X200.

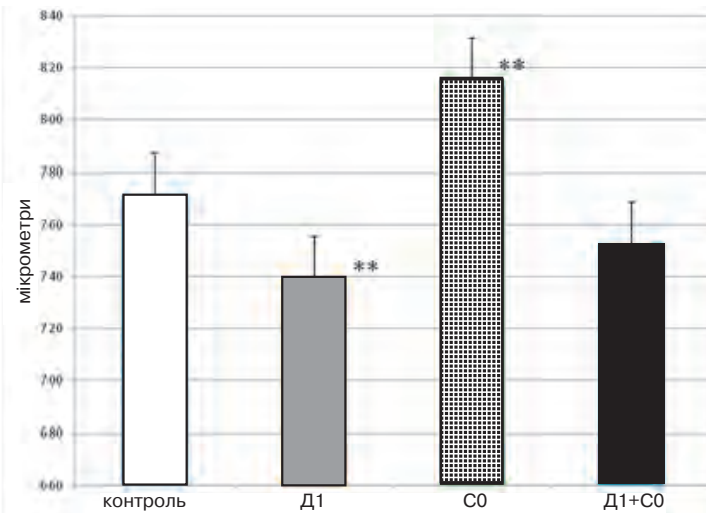


Рис. 3. Товщина слизової оболонки шлунка щурів, що отримували Д1,  $\text{CoCl}_2$  та їх комбінацію (\*\*  $p < 0,01$ ).

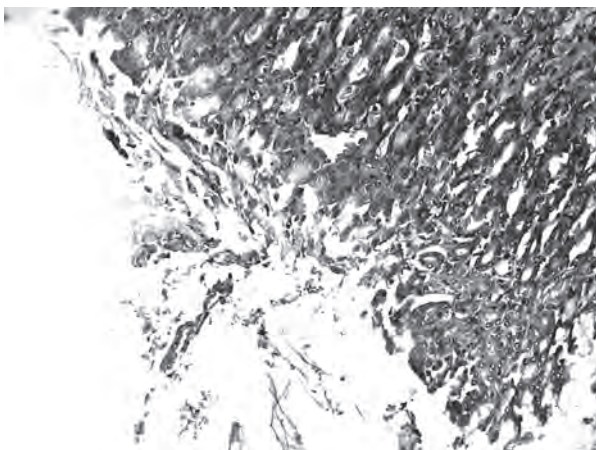


Рис. 4. Мікрофотографія фундального відділу шлунку щурів групи  $\text{CoCl}_2$ . Деструкція залоз слизової оболонки шлунку та нашарування на поверхні епітелію, крововиливи. Забарвлення гематоксилин-еозин-оранж, збільшення X200.

оболонки, поодинокими зонами з ознаками запалення у вигляді лімфоїдної інфільтрації (рис. 2). Однак, товщина слизової оболонки під впливом похідного дигідропіролу достовірно зменшувалась, порівняно з контролем (рис. 3). Подекуди спостерігалися ділянки поверхневої десквамації епітелію залоз, їх скелетизації та поверхневої деструкції (рис. 2). Парієтальні клітини шлункових залоз у групі Д1 розвинені нормально, не відрізнялись від таких у контролі.

Введення хлориду кобальту викликало більш значні морфологічні зміни слизової оболонки шлунку: спостерігався виражений набряк підслизової оболонки, товщина слизової оболонки вірогідно зростала (рис. 3). У тварин групи  $\text{CoCl}_2$  спостерігалась велика кількість ділянок з ознаками запалення у вигляді вогнищевої лімфоінфільтрації. У поверхневого епітелію було відмічено десквамацію як апікальних епітеліоцитів, так і залоз в цілому.

При дії хлориду кобальту на значній поверхні мала місце поверхнева скелетизація та поверхнева деструкція залоз, нашарування на поверхні епітелію (рис. 4). Парієтальні клітини та їх ядра були значно збільшені у розмірах, що свідчить про посилення процесів синтезу та погіршення виведення продуктів обміну.

На гістологічних препаратах шлунку щурів, що отримували хлорид кобальту сумісно з похідним дигідропіролу Д1 товщина слизової оболонки поверталась до контрольних значень (рис. 3). Набряк та лімфоїдна інфільтрація у підслизовій оболонці і власній пластинці слизової були виражені помірно (рис. 5). Пошкодження поверхневого епітелію, представлені ділянками поверхневої десквамації епітелію залоз, їх скелетизації та поверхневої деструкції, за інтенсивністю були подібними до таких у групі Д1. У шлунку щурів групи Д1+  $\text{CoCl}_2$



Рис. 5. Мікрофотографія зрізу фундального відділу шлунку щурів групи Д1+  $\text{CoCl}_2$ . Лімфо інфільтрація слизової. Забарвлення гематоксилин-еозин-оранж, збільшення X200.



подекуди спостерігалися двохядерні клітини, що свідчить про посилення секреції соляної кислоти, яке є одним з патогенетичних чинників формування деструктивно-запальних процесів у слизовій оболонці [1].

### Висновки

Похідне дигідропіролу Д1 вірогідно зменшувало товщину слизової оболонки шлунку щурів, спричиняло незначну десквамацію епітелію поверхневих відділів шлункових залоз, частково їх скелетизацію, викликав локальну помірну лімфоінфільтрацію підслизової основи слизової оболонки.

Хлорид кобальту спричиняв досить значне пошкодження слизової оболонки у вигляді великих ділянок десквамації епітелію залоз, поверхневої деструкції залоз та нашарування на поверхні епітелію, виражену лімфоінфільтрацію підслизової основи слизової оболонки, зростання товщини слизової її набряк.

При сумісній дії похідного дигідропіролу Д1 і хлориду кобальту ознаки запалення, десквамація епітелію та деструкція шлункових залоз, викликані  $\text{CoCl}_2$ , зменшувались.

Таким чином, хлорид кобальту, індукуючи оксидативний стрес, викликає запалення, пошкодження капілярного русла, порушення цілісності епітелію, спричиняє зниження функціональної активності слизової оболонки шлунка. Д1 при дії на слизову оболонку шлунка на тлі оксидативного стресу дещо зменшує токсичний вплив останнього за рахунок зниження рівня запального процесу і активізації компенсаторно-приспосувальних реакцій організму у всіх відділах.

**Перспективи подальших досліджень.** Планується дослідити вплив похідного піролу Д1 у порівнянні з 5-фторурацилом на тлі оксидативного стресу.

## Література

1. Аруин Л. И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. – М.: Медицина, 1998. – 496 с.
2. Афанасьев Ю. И. Гистология. / Ю. И. Афанасьев, Н. А. Юрина, Е. Ф. Котовский // М.: Медицина, 2003. – 737с.
3. Бойчук Н. В., Исламов Р. Р., Улумбеков Э. Г., Челышев Ю. А. Гистология (введение в патологию) / под. ред. Э. Г. Улумбекова, Ю. А. Челышева / Н. В. Бойчук, Р. Р. Исламов, Э. Г. Улумбеков, Ю. А. Челышев // М.: ГЕОТАР МЕДИЦИНА, 1998. – 960 с.
4. Гарманчук Л. В. Цитотоксичный вплив на пухлинні клітини *in vitro* агентів з протипухлинним та антиметастатичним ефектом. / Л. В. Гарманчук, Н. В. Сенчило, В. В. Нікуліна, Х. Д. Непийвода, Т. В. Ніколаєнко, Є. О. Деніс, Л. І. Остапченко // Фізика живого. – 2011. – Т.19, № 2. – С.51-53.
5. Горальський Л. П. Основи гістологічної техніки і морфо-функціональні методи досліджень у нормі та при патології. Навчальний посібник. / Л. П. Горальський, В. Т. Хомич, О. І. Кононський // Житомир: Полісся, 2005. – 288 с.
6. Имянитов Е. Н. Общие представления о таргетной терапии / Е. Н. Имянитов // Прак. Онкология. – 2010. – Т.11, №3. – С.123-130.
7. Кузнецова Г. М. Протипухлинна дія цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу при хемо-індукованому канцерогенезі товстої кишки щурів. / Г. М. Кузнецова // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. – 2011. – Вип. 5 (107). – С. 66-74.
8. Кузнецова Г. М. Взаємозв'язок показників пухлинного росту і ростової активності прилеглих до колоректальних пухлин тканин кишечника щурів, що зазнавали впливу цитостатиків похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу / Г. М. Кузнецова, О. В. Оглобля, Т. А. Воловченко, В. К. Рибальченко // Фізика живого. – 2011. – Т. 19, № 1. – С.33-39.
9. Кузнецова Г. М. Порівняння впливу цитостатичних сполук похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу на слизову оболонку кишечника щурів / Г. М. Кузнецова, Г. В. Островська, В. К. Рибальченко // Современные проблемы токсикологии. – 2011. – №1-2. – С.47-51
10. Олійниченко П. И., Булкина З. П., Синиборода Т. И. Справочник по полихимиотерапии опухолей / П. И. Олійниченко, З.П. Булкина, Т. И. Синиборода – К: Здоровье, 2000. – 301 с.
11. Пат. на корисну модель № 22204 (UA), А61К31/40. Сполука 1,4-заміщених 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-онів, що має протиракову активність / Дубініна Г. Г., Воловченко Ю. М. – Опубл. 25.04.2007, Бюлл. №5.
12. Телетаева Г. М. Профилактика и лечение желудочно-кишечных осложнений лекарственной терапии (тошнота и рвота, мукозиты, диарея) / Г. М. Телетаева // Практическая онкология, 2009. – Т.10, №3. – С.158-167.
13. Dancy J. Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment / J. Dancy, E. A. Sausville // Nature Rev. Drug Discovery. – 2003. – V.2, №4. – P.296-313.

УДК 616.018: 612.335+57.044

### ВПЛИВ ЦИТОСТАТИКА ПОХІДНОГО ДИГІДРОПІРОЛУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ШЛУНКА ЩУРІВ НА ТЛІ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

Дзюбенко Н. В., Линчак О. В.

**Резюме.** Досліджено вплив цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу Д1 на слизову оболонку шлунка здорових щурів і у тварин з  $\text{CoCl}_2$ -викликаним оксидативним стресом. Показано, що Д1 при дії на слизову оболонку шлунка на тлі оксидативного стресу дещо зменшує токсичний вплив останнього за рахунок зниження рівня запального процесу і активізації компенсаторно-приспосувальних реакцій організму у всіх відділах.

**Ключові слова:** слизова оболонка шлунка, похідне дигідропірола,  $\text{CoCl}_2$ .

УДК 616.018: 612.335+57.044

### **ВЛИЯНИЕ ЦИТОСТАТИКА ПРОИЗВОДНОГО ДИГИДРОПИРРОЛА НА СЛИЗИСТУЮ ОБОЛОЧКУ ЖЕЛУДКА КРЫС НА ФОНЕ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА**

**Дзюбенко Н. В., Линчак О. В.**

**Резюме.** Исследовано влияние цитостатического соединения производного дигидропиirroла Д1 на слизистую оболочку желудка здоровых крыс и у животных с  $\text{CoCl}_2$ -вызванным оксидативным стрессом. Показано, что Д1 при воздействии на слизистую оболочку желудка на фоне оксидативного стресса несколько уменьшает токсическое воздействие последнего за счет снижения уровня воспалительного процесса и активизации компенсаторно-приспособительных реакций организма во всех отделах.

**Ключевые слова:** слизистая оболочка желудка, производное дигидропиirroла,  $\text{CoCl}_2$ .

UDC 616.018: 612.335+57.044

### **INFLUENCE OF CYTOSTATIC COMPOUND DIHYDROPYRROL DERIVATIVE ON RAT STOMACH MUCOSA UNDER OXIDATIVE STRESS CONDITION**

**Dziubenko N. V., Lynchak O. V.**

**Abstract.** Influence of cytostatic compounds derived dihydropiirrolo D1 on gastric mucosa of healthy rats and in animals with  $\text{CoCl}_2$ -induced oxidative stress. D1 at a dose of 2.3 mg/kg edema presented moderate submucosal membrane of gastric mucosa and lamina propria mucosa, isolated areas with signs of inflammation in the form lymphoid infiltration. However, the thickness of the mucous membrane under the influence of the original dihydropiirrolo significantly reduced compared to control. Areas of desquamation of surface epithelium glands, their skeletyzatsiyi and surface degradation were present. Parietal cells of the gastric glands in the D1 group developed normally, no different from those in control.

The introduction of cobalt chloride caused more important morphological changes of gastric mucosa: submucosal edema was observed, shell thickness mucosa significantly increased. Animals of  $\text{CoCl}_2$  group observed a large number of sites with evidence of inflammation in the form of focal lymphoinfiltration. In the surface epithelium was observed as epithelial desquamation and glands in general. The action of cobalt chloride on a large surface occurred skeletyzation surface and surface degradation glands layers on the surface epithelium. Parietal cells and their nuclei were significantly increased in size, indicating a strengthening of the synthesis output and worsening metabolic products.

In histological preparations of stomach of rats with D1 +  $\text{CoCl}_2$  mucosal thickness returned to control values. Edema and lymphoid infiltration of the submucosal membrane and lamina propria mucosa were expressed moderately. Damage to the surface epithelial desquamation intensity were similar to those in the group D1. In the stomach of rats D1 +  $\text{CoCl}_2$  sometimes observed binuclear cells, indicating that the increased secretion of hydrochloric acid, which is one of the pathogenetic factors of forming destructive inflammatory process in the mucosa.

Thus, cobalt chloride, inducing oxidative stress, causing inflammation, damage to the capillary, violation of the integrity of the epithelium causes a reduction in the functional activity of the gastric mucosa. D1 when exposed to gastric mucosa against the backdrop of oxidative stress decreases somewhat toxic effects latter by reducing inflammation and activation of compensatory-adaptive reactions in all departments.

**Keywords:** stomach mucosa, dihydropyrrrol derivative,  $\text{CoCl}_2$ .

*Рецензент – проф. Старченко І. І.*

*Стаття надійшла 09.10.2015 р.*