

ВПЛИВ ПОХІДНОГО ДИГІДРОПІРОЛУ З ЦИТОСТАТИЧНОЮ АКТИВНІСТЮ НА МІОКАРД ЩУРІВ ЗА УМОВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ

О.А. Столяр, І.В. Харчук, Г.В. Островська

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

Вступ

Процеси вільнорадикального окислення протікають в тканинах організму як у нормі, так і при патології. Порушення оксидантно-антиоксидантної рівноваги внаслідок дії різних чинників призводить до оксидативного стресу, який є універсальною реакцією клітин на пошкоджуючий вплив. Онкологічні захворювання часто характеризуються підвищеним рівнем концентрації вільних радикалів, що негативно впливає на перебіг хвороби [7]. Пухлинні клітини перебувають у стані оксидативного стресу, рівень якого недостатньо високий для індукції апоптозу, але достатній для підтримання високої швидкості мутацій [6]. Оксидативний стрес може бути як причиною, так і наслідком злоякісних перетворень [1]. Тому важливим є дослідження дії цитостатичних препаратів на фоні оксидативного стресу, як супутнього стану канцерогенезу. Новосинтезована сполука похідне дигідропіролу 1-(4-(2-етил)морфолін)-4-(бензо[d]тіазол-2-іл)-5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (далі Д-1) є потенційним протипухлинним препаратом. Д-1 виявляє цитостатичну активність на культурах злоякісних пухлин *in vitro* [1] та характеризується низьким токсичним впливом на органи щурів [3]. Крім того, Д-1 має антиоксидантні властивості при інтоксикації хлоридом кобальту, зменшуючи токсичний вплив оксидативного стресу на слизову оболонку тонкого кишечника щурів [4].

Метою нашої роботи стало дослідження структурно-функціонального стану міокарду щурів під впливом Д-1 за умов оксидативного стресу.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведені на 32 білих щурах-самцях масою 200-250 г, яких утримували в умовах віварію на стандартному харчовому раціоні при нормальному світловому дні. Оксидативний стрес моделювали шляхом внутрішньоочеревинних ін'єкцій тваринам 0,1 мл хлориду кобальту ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), розчиненого у 0,09%-ному NaCl, в дозі 13 мг/кг протягом 10 днів [2]. Д-1 вводили щурам перорально у дозі 2,3 мг/кг (що створює концентрацію його у крові 10-4М) розчиненим у соняшниковій олії та 15% ДМСО (всього 0,1 мл). Контрольна група тварин отримувала 0,1 мл олії перорально та 0,1 мл фізіологічного розчину внутрішньоочеревинно.

Для морфологічних досліджень проводили стандартну гістологічну обробку серця [5]. Зрізи товщиною 5-7 мкм забарвлювали гематоксиліном Б'ємера з дофарбуванням еозин-оранжем. Стан міокарду оцінювали після мікроскопічних та морфометричних досліджень, які проводили за допомогою світлового мікроскопу Olympus BX-41 та програми Image J. У міокарді щурів вимірювали товщину кардіоміоцитів (надалі КМЦ), площу їх ядер та діаметр капілярів. Статистичну обробку проводили за допомогою програми STATISTICA 7 з використанням U-тесту Манна-Уїтні.

Отримані результати та їх обговорення

В міокарді щурів контрольної групи виявляються нормальні м'язеві волокна, які рівномірно забарвлюються еозином. М'язеві клітини розміщуються пучками, виявляється їх поперечна посмугованість. Ядра мають овальну або овально-випуклу форму і займають у клітинах переважно центральне положення. Капіляри не розширені, рівномірно кровонаповненні; еритроцити не виходять за їх межі. У міжм'язевих просторах відмічені поодинокі лімфоцити і фібробласти. Усі морфометричні показники контрольної групи представлені на рисунках 1-3. ЗД-1 не викликає суттєвих морфо-функціональних змін у міокарді щурів. М'язеві волокна, розміщені пучками, мають приблизно однакову товщину і форму. Цитоплазма клітин забарвлюється рівномірно. Помітна поперечна посмугованість КМЦ. Ядра займають центральне положення і мають овальну форму. Значення товщини КМЦ та площі їх ядер достовірно не відрізняються від значень контрольної

групи (рис.1,2). Спостерігається значне збільшення кровонаповнення капілярів, що призводить до їх нерівномірного розширення. Їх діаметр збільшується на 26,4% порівняно з контрольною групою (рис. 3). У стінці судин відмічаються лейкоцитарні інфільтрати, що є ознакою периваскулярного запалення.

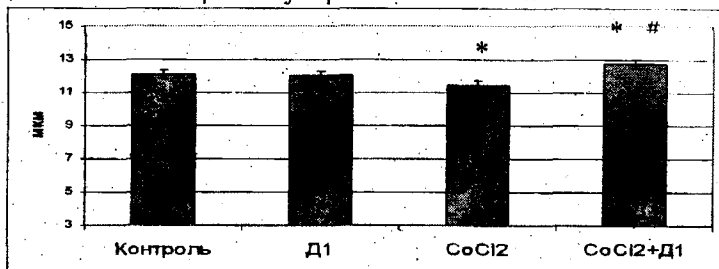


Рис 1. Товщина КМЦ міокарду щурів під впливом Д1, СоCl₂ та їх сумісної дії (* позначена вірогідна різниця між дослідом і контролем при p<0,05; # позначена вірогідна різниця між дослідом та групою СоCl₂ при p<0,05).

У групі з Со-індукованим оксидативним стресом м'язевий шар переважно залишається цілісним, однак спостерігаються деструктивні зміни окремих волокон. Слабко виражена поперечна посмугованість КМЦ. М'язеві волокна розміщуються пучками, вони витончуються порівняно з контрольною групою на 5,4% (рис. 1). Ядра мають овально-втягнуту форму та займають центральне положення клітини; їх площа зменшується на 6,8% порівняно з контролем (рис. 2). Кровонаповнення капілярів збільшується, їх діаметр зростає на 27,5% (рис. 3). Іноді помітно еритродіapedез. Відмічається навколосудинний набряк. У міжм'язевих проміжках збільшується кількість лімфоцитів, макрофагів, тучних клітин. Це може бути пов'язано із функціональним напруженням органу та розвитком запалення.

При введенні Д-1 на фоні оксидативного стресу не виявлено суттєвих змін у структурі міокарду. М'язеві волокна розміщені пучками, мають приблизно однакову товщину і форму. Помітна поперечна посмугованість КМЦ. Їх товщина збільшується порівняно, як із контролем (на 5,3%), так і з індивідуальним впливом СоCl₂ (на 11,3%) (рис. 1). Площа ядер займає проміжне положення між значеннями груп, що отримували окремо СоCl₂ та Д-1 та достовірно не відрізняється від

значень контрольної групи (рис. 2). Капіляри розширені, нерівномірно кровонаповненні. Їх діаметр зростає на 35,3% порівняно з контрольною групою (рис. 3). Навколо судин невеликого діаметру спостерігаються інфільтрати, основну масу яких становлять лімфоцити, макрофаги та тучні клітини.

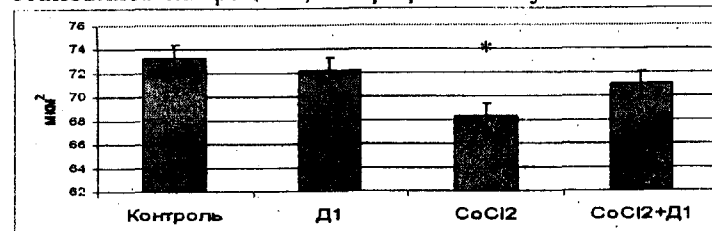


Рис 2. Площа ядер КМЦ міокарду щурів під впливом Д1, СоCl₂ та їх сумісної дії (у рис. 2-3 * позначена вірогідна різниця між дослідом і контролем при p<0,05).



Рис 3. Діаметр капілярів міокарду щурів під впливом Д1, СоCl₂ та їх сумісної дії.

Таким чином, Д-1 усуває деструктивні зміни у кардіоміоцитах, викликані оксидативним стресом, відновлюючи розміри ядер та стимулюючи синтетичну активність КМЦ, про що свідчить збільшення товщини КМЦ порівняно з контролем та з індивідуальним впливом СоCl₂. Схожий ефект викликає інша сполука з цитостатичною активністю - похідне малеїміду [8]. Крім того, зберігається нерівномірне кровонаповнення капілярів, що спостерігалось при окремій дії Д-1 та СоCl₂, а також ознаки периваскулярного запалення та функціонального напруження органу. Деяка гіпертрофія кардіоміоцитів за умов дії Д-1 на фоні оксидативного стресу свідчить про мобілізацію синтетичного потенціалу клітин серця під впливом Д-1, що може бути позитивним в умовах порушення прооксидантно-оксидантної рівноваги при канцерогенезі.

Висновки

1. Цитостатична сполука Д-1 не викликає значних структурних пошкоджень міокарду щурів, але викликає нерівномірне розширення кровоносних капілярів.

2. Оксидативний стрес, індукований хлоридом кобальту, викликає розвиток деструктивних змін міокарду щурів: зменшуються товщина КМЦ та площа їх ядер, збільшується діаметр капілярів.

3. Д-1 за умов оксидативного стресу частково попереджує негативний вплив останнього на міокард щурів. Деяка гіпертрофія КМЦ свідчить про зростання активності синтетичних процесів у міокарді.

4. Похідне дигідропіролу 1-(4-(2-етил)морфолін)-4-(бензо[d]тіазол-2-іл)-5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он впливає на морфофункціональний стан міокарду щурів не істотно та покращує його за умов оксидативного стресу. Це свідчить про доцільність подальших досліджень впливу Д1.

Література

1. Дубініна Г.Г. Сполука 1,4-заміщених 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-онів, що має протиракову активність / Г.Г. Дубініна, Ю.М. Воловенко // Патент №22204 UA від 25.04.2007.

2. Калиман П.А. Цикл глюкоза-жирные кислоти при оксидативном стрессе у крыс, вызванном хлоридом кобальта / П.А. Калиман, С.М. Охрименко // Укр. біохімічний журнал. - 2005. - Т.77, №2. - С. 154-158.

3. Кузнецова Г.М. Порівняння впливу цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу на слизову оболонку кишечника щурів / Г.М. Кузнецова, Г.В. Островська, Ю.М. Воловенко, В.К. Рибальченко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб.наук.праць. - Київ; Луганськ, 2010. - Вип.5(101). - С. 39-45.

4. Кузнецова Г.М. Вплив цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу на слизову оболонку тонкого кишечника щурів за умов дії оксидативного стресу / Г.М. Кузнецова, Г.В. Островська, Ю.М. Воловенко, В.К. Рибальченко // Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології : зб.наук.праць. - Київ; Луганськ, 2010. - Вип.4(100). - С. 270-279.

5. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р.Лилли. - М.: Мир, 1969. - 648 с.

6. Brownl N.S. Hypoxia and oxidative stress in breast cancer: Oxidative stress: its effects on growth, metastatic potential and response to therapy of breast cancer / N.S. Brownl, R. Bicknell // Breast Cancer Res. - 2001. - V.5, № 3. - P. 323-327.

7. Cumminis E.P. Hypoxia-responsive transcription factors / E.P. Cumminis, C.T. Taylor // Eur. J. Physiol. - 2005. - V.450. - P. 363-371.

8. Харчук І.В. Реакція міокарду щурів на тривалий вплив похідного малеїміду потенційного протипухлинного засобу / І.В.Харчук, В.К. Рибальченко // Вісник проблем біології і медицини. - 2011. - Т. 2, Вип 2. - С. 282-285.

Резюме

Столяр О.А., Харчук І.В., Островська Г.В. Вплив похідного дигідропіролу з цитостатичною активністю на міокард щурів за умов оксидативного стресу.

Досліджено вплив цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу (Д-1) на морфологію міокарду щурів окремо та на фоні дії оксидативного стресу. Показано зменшення токсичної дії оксидативного стресу під впливом Д-1, деяка гіпертрофія кардіоміоцитів свідчить про зростання активності синтетичних процесів у міокарді.

Ключові слова: похідне дигідропіролу, оксидативний стрес, міокард щурів.

Резюме

Столяр О.А., Харчук І.В., Островская Г.В. Влияние производного дигидропиirroла с цитостатической активностью на миокард крыс в условиях окислительного стресса.

Изучено влияние цитостатического соединения производного дигидропиirroла (Д-1) на морфологию миокарда крыс отдельно и на фоне действия окислительного стресса. Показано уменьшение токсического влияния окислительного стресса под действием Д-1, некоторая гипертрофия кардиомиоцитов свидетельствует о повышении активности синтетических процессов в миокарде.

Ключевые слова: производное дигидропиirroла, окислительный стресс, миокард крыс.

Summary

Stoliar O.A., Kharchuk I.V., Ostrovska G.V. The influence of dihydropyrrol derivative with cytostatic activity on rats' myocardium under oxidative stress.

The influence of cytostatic compound dihydropyrrol derivative (D-1) on myocardium morphology alone and under oxidative stress was investigated. D-1 eliminates negative effect of oxidative stress on myocardiocytes. Some hypertrophy of cardiac cells under the influence of D-1 in oxidative stress conditions provides evidence of increased synthetic activity in myocardium.

Key words: dihydropyrrol derivative, oxidative stress, rat myocardium.

Рецензент: д.біол.н., проф.Б.П.Романюк