

15. Парфенова Е.И. Минералогические исследования в почвоведении / Е.И. Парфенова, Е.А. Ярилова. – М.: Изд-во АН СССР, 1962. – 206 с.

16. Польский М.Н. Некоторые новые приемы изготовления шлифов из почв / М.Н. Польский // Почвоведение. – 1962. – № 10. – С. 104–111.

17. Фридланд В.М. Черnozемы СССР / В.М. Фридланд. – М.: Колос, 1981. – 256 с.

Резюме

Городюк Е.В. *Современные представления об экологической роли эдафотопов в степи.*

Представление об экологической роли эдафотопов в степи позволяет сделать вывод, что эта наука развивалась не как чисто описательная и умозрительная дисциплина, а сформировалась в ответ на практические запросы бурно развивающегося земледелия индустриальной эры. На основании этого автор сделал вывод, что надо подчеркнуть широкое использование в почвоведении системного методического подхода, при котором почва рассматривается, с одной стороны, как целостная система, состоящая из множества взаимодействующих подсистем-блоков, а с другой – как подсистема в экосистемах биосферы или экосферы.

Ключевые слова: биосферы, экосферы, эдафотоп, эрозия, микроморфология, экосистема, экологическая роль, организм, климат.

Резюме

Городюк О.В. *Сучасні уявлення про екологічну роль едафотопів в степу.*

Уявлення про екологічну роль едафотопів в степу дозволяє зробити висновок, що ця наука розвивалася не як описова і умоглядна дисципліна, а сформувалася у відповідь на практичні запити землеробства індустріальної ери, що бурхливо розвивається. На підставі цього автор зробив висновок, що потрібно підкреслити широке використання в ґрунтознавстві системного методичного підходу, при якому ґрунт розглядається, з одного боку, як цілісна система, що складається з безлічі взаємодіючих підсистем-блоків, а з іншого – як підсистема в екосистемах біосфери або екосфери.

Ключові слова: біосфера, екосфери, едафотоп, ерозія, микроморфологія, екосистема, екологічна роль, організм, клімат.

Summary

Gorodnyuk E.V. *Modern concepts of environmental role edafotop in the steppes.*

Idea of the ecological role of the steppe edafotop suggests that this science is not developed as a purely descriptive and speculative discipline, and was formed in response to the practical demands of agriculture booming industrial era. On this basis, the author concluded that it is necessary to emphasize the wide use of the system in Soil methodical approach in which the soil is considered, on the one hand, as an integrated system consisting of many interacting subsystems blocks, and on the other – as a subsystem in the ecosystems of the biosphere or ecosphere.

Key words: biosphere, ecosphere edafotop, erosion, micromorphology, ecosystem, ecological role, body climate.

Рецензент: д.мед.н., проф. С.М. Смірнов

УДК 612.363: 57.044+616.018

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОЗ ІНГІБІТОРА ПРОТЕЇНкінаЗ ПОХІДНОГО МАЛЕІМІДУ НА СТАН СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ СЛІПОЇ КИШКИ ЩУРІВ

М.С. Єна, Г.М. Кузнецова, О.В. Линчак, В.К. Рибальченко

Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Вступ

Попередження розвитку злоякісних новоутворень та лікування онкохворих залишається важливою проблемою сьогодення. Незважаючи на значний прогрес в області діагностики і лікування раку, смертність від онкологічних захворювань займає друге місце у світі після серцево-судинної патології. Тому актуальною є проблема пошуку та розробки ефективних і малотоксичних препаратів, які були б спрямовані на подолання цієї недуги. Нерідко причиною виникнення новоутворень є аномальна активація рецепторів факторів росту, які мають тирозинкіназну активність та регулюють різні етапи клітинного циклу, тому перспективною є розробка цільових (таргентних) препаратів – інгібіторів тирозинкіназ. Речовини даного класу мають переважно цитостатичну дію, їх вплив на життєдіяльність нормальних клітин є обмеженим [6, 7, 12, 13].

Перспективними сполуками в цьому напрямку є похідні малеїмїду, які завдяки просторовій структурі молекул можуть зв'язуватися з АТФ-зв'язуючим сайтом низки тирозинкіназ [3] та ефективно їх блокувати [1, 4, 10, 14]. Похідне малеїмїду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (далі МІ-1) (рис. 1) було створено методом *in silico* дизайну Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету імені Тараса Шевченка як інібітор протеїнкіназ. Встановлена висока антипроліферативна активність цієї сполуки на культурах трансформованих клітин людини [2, 10] та протиопухлинна активність на моделі раку товстої кишки щурів [7].

При розробці протипухлинних лікарських засобів важливим критерієм є відсутність їх негативного впливу на стан організму при тривалому застосуванні [5]. Органи шлунково-кишкового тракту першими зазнають впливу речовин екзогенного походження, у тому числі лікарських препаратів, при їх пероральному за-

стосуванні, і саме з боку травної системи спостерігаються більшість побічних ефектів протипухлинної терапії, що пов'язано з підвищеною чутливістю епітелію шлунково-кишкового тракту до дії цитостатиків через його високу проліферативну активність.

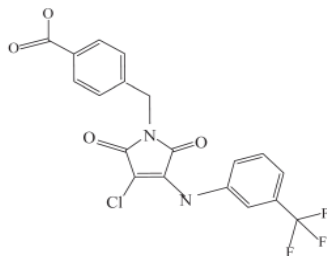


Рис. 1. Похідне малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дані дослідження виконані в рамках науково-дослідної роботи Київського національного університету імені Тараса Шевченка «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (тема № 11БФ036-01 № держреєстрації 0111U004648).

Метою даної роботи було дослідження впливу різних доз МІ-1 на морфо-функціональний стан слизової оболонки сліпої кишки щурів як органу шлунково-кишкового тракту, що характеризується високою проліферативною активністю клітин та розвинутою системою місцевого імунітету.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 29 білих нелінійних щурах-самцях з початковою масою тіла 140-160 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Дослідження проведені відповідно до принципів біоетики, законодавчих норм та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986) і «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001).

МІ-1 вводили щоденно per os протягом 2 тижнів у дозах, що за умов повного всмоктування створюють концентрації в крові 10⁻⁴М (умовно ефективна [7]), 5x10⁻⁴М, 10x10⁻⁴М (2,7 мг/кг, 13,5 мг/кг та 27 мг/кг відповідно), розчиненим у соняшниковій олії, що містить

15% ДМСО (всього 0,1 мл). Контрольні тварини отримували олію, що містить 15% ДМСО (всього 0,1 мл). Було сформовано 4 групи: I – контроль (n=8), II – МІ-1 2,7 мг/кг маси тіла (n=5); III – МІ-1 13,5 мг/кг маси тіла (n=8); IV – МІ-1 27,0 мг/кг маси тіла (n=8). Тварин забивали через 1 добу після останнього введення речовин шляхом інгаляції CO₂ з наступною цервікальною дислокацією.

Для гістологічних досліджень брали сегменти сліпої кишки, які фіксували у 10% нейтральному сольовому формаліні, виготовляли парафінові зрізи та забарвлювали гематоксиліном, еозином та оранжем за стандартною методикою [8]. Препарати аналізували на світлооптичному рівні за допомогою мікроскопа Bresser Researcher Trino (збільшення 100, 400) (Bresser, Germany), кольорові мікрофотографії отримували за допомогою цифрової фотокамери Delta Optical CCD HDCE 5.0 (Delta Optical, Poland) та вказаного мікроскопа. Оцінювали загальний стан слизової оболонки сліпої кишки, підраховували відносну кількість келихоподібних клітин та мітотичний індекс клітин у криптах. Морфометричні дослідження проводили за допомогою програми WCIF ImageJ. Вимірювали товщину слизової оболонки, глибину та ширину крипт, висоту колоноцитів, площу поперечного перетину келихоподібних клітин та ядер колоноцитів.

Обробку експериментальних даних здійснювали методами варіаційної статистики [11] за допомогою пакету програм SPSS 16.0: дані перевіряли на нормальність розподілу за допомогою Z-тесту Колмогорова-Смірнова, міжгрупові порівняння здійснювали методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з використанням для апостеріорних множинних порівнянь F-критерію Фішера, а також за допомогою U-тесту Манна-Уїтні. Різниця між значеннями показників, що порівнювались, вважалась вірогідною при p≤0,05.

Отримані результати та їх обговорення

Слизова оболонка сліпої кишки щурів групи контролю має типову гістологічну будову, характерну для цього виду піддослідних тварин, без ознак патологічних процесів. Морфометричні дані представлено у таблиці 1. За умов впливу МІ-1 у дозі 2,7 мг/кг у слизовій оболонці сліпої кишки спостерігаються незначні розширення кровоносних капілярів та злущення епітелію, проте здебільшого її стан не відрізняється від контролю. У слизовій оболонці вірогідно збільшується висота колоноцитів (на 23,2 %) (табл. 1). Описані зміни можуть свідчити [9] про активацію адаптаційних процесів у слизовій оболонці сліпої кишки щурів.

Вплив 5-кратної дози МІ-1 (13,5 мг/кг) також не викликає змін гістоархітекτονіки слизової оболонки сліпої кишки, проте спричиняє появу невеликих розширень кровоносних капілярів, незначну інфільтрацію лімфоцитами власної пластинки слизової оболонки. При дії МІ-1 у даній дозі вірогідно збільшується відносна кількість келихоподібних клітин (на 49,5 %) (табл. 1), що може свідчити про посилення слизоутворення у слизовій оболонці.

Таблиця 1

Морфометричні показники слизової оболонки сліпої кишки щурів за умов дії різних доз МІ-1 ($M \pm m$)

Показник	Контроль	МІ-1, 2,7 мг/кг	МІ-1, 13,5 мг/кг	МІ-1, 27 мг/кг
товщина слизової оболонки, мкм	482,7±33,0	505,8±90,6	545,8±71,1	575,7±111,2
глибина крипт, мкм	204,5±58,2	223,5±45,0	194,4±21,4	218,6±41,2
ширина крипт, мкм	28,9±4,4	38,6±5,6	29,5±3,6	28,8±5,0
висота колоноцитів, мкм	12,9±1,6	15,9±3,0*	12,5±2,0	14,1±1,8
площа ядер колоноцитів, мкм ²	15,8±3,4	19,9±1,8	13,3±2,0	14,3±2,8
площа келихоподібних клітин, мкм ²	102,0±21,6	99,6±9,6	90,6±24,6	94,6±19,4
відносна кількість келихоподібних клітин, %	19,4±2,0	26,6±7,0	29,0±3,6*	25,0±4,8
мітогичний індекс, %	2,4±0,6	5,0±1,6	2,3±0,4	2,7±0,8
відносна кількість біфуркаційних крипт, %	4,1±1,0	5,0±1,0	4,6±1,2	4,0±1,6

Примітка: * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.

При дії 10-кратної дози МІ-1 (27,0 мг/кг) у поверхневому епітелії слизової оболонки помітні дистрофічні зміни, спостерігаються мікроциркуляторні порушення, незначна лімфоінфільтрація власної пластинки, що є ознаками запального процесу. У порівнянні з іншими дослідними групами лімфатичні фолікули дещо збільшені, але вірогідних змін морфометричних показників не спостерігається (табл. 1).

Аналіз отриманих даних свідчить про те, що похідне малеїміду 1-(4-СІ-бензил)-3-СІ-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (МІ-1) не викликає деструктивних змін слизової оболонки сліпої кишки щурів за умов дії у дозах, що перевищують умовно ефективну [7] у 5 і 10 разів, протягом 2 тижнів. МІ-1 у дозі 2,7 мг/кг (умовно ефективна) [7] структурних змін у слизовій оболонці сліпої кишки не викликає, збільшення висоти колоноцитів може бути ознакою посилення їх функціональної активності як адаптаційного процесу. При дії у 5-кратній дозі (13,5 мг/кг) МІ-1 спричиняє подекуди розширення кровоносних капілярів та збільшення відносної кількості келихоподібних клітин, що свідчить про посилення слизоутворення як захисну реакцію дію на ксенобіотика. При дії МІ-1 у 10-кратній дозі (27 мг/кг) спостерігаються дистрофічні зміни поверхневого епітелію слизової оболонки сліпої кишки, ознаки її запалення у вигляді мікроциркуляторних порушень та лімфо-інфільтрації власної пластинки. Вірогідних змін морфометричних показників, які б свідчили про функціональні зміни слизової оболонки, не виявлено. Таким чином, сполука 1-(4-СІ-бензил)-3-СІ-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон, що має високу протипухлинну активність, показану в тому числі на моделі раку товстої кишки щурів [1, 7], характеризується значною терапевтичною широтою при дії на тканини з високою проліферативною активністю, і тому заслуговує увагу як потенційний потипухлинний препарат.

Висновки

1. 1-(4-СІ-бензил)-3-хлоро-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (МІ-1) в жодній з досліджених доз не призводить до деструктивних змін слизової оболонки сліпої кишки щурів.

2. МІ-1 у дозах 2,7 і 13,5 мг/кг (умовно ефективна та 5-кратна від умовно ефективної) викликає зміни показників клітин слизової оболонки, що можуть свідчити про інтенсифікацію функціональної активності колоноцитів і посилення слизовиділення як ознаки компенсаторних процесів.

3. MI-1 у дозі 27 мг/кг (10-кратна від умовно ефективної) спричиняє ознаки запалення, дистрофічні зміни поверхневого епітелію слизової оболонки сліпої кишки.

Література

1. Гарманчук Л.В. Производное малеимида 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1Н-пирол-2,5-дион как эффективный и малотоксичный цитостатик / Л.В. Гарманчук, О.В. Линчак, В.В. Никулина [та ін.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2013. – Т. 76, № 8. – С. 39-42.
2. Гарманчук Л.В. Цитотоксичний вплив на пухлинні клітини *in vitro* агентів з протипухлинним та антиметастатичним ефектом / Л.В. Гарманчук, Н.В. Сенчило, В.В. Нікуліна [та ін.] // Фізика живого. – 2011. – Т. 19, № 2. – С. 51-53.
3. Дубініна Г.Г. Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-фениламино)-1Н-пірол- 2,5-діону / Г.Г. Дубініна, С.М. Головач, В.О. Козловський [та ін.] // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2007. – Т.5, №1. – С. 39-49.
4. Єна М.С. Стан слизової оболонки товстої кишки щурів за умов дії зростаючих доз цитостатика похідного малеїміду / М.С. Єна, І.П. Котляр, О.В. Кравець, Г.М. Кузнецова // Матеріали XII міжнародної конференції студентів та молодих науковців – Київ, 2014. – С. 100.
5. Жуков Н.В. Целевая терапия в лечении солидных опухолей: практика противоречит теории / Н.В.Жуков, С.А. Тюляндин // Биохимия – 2008. – Т. 73, Вып. 5. – С. 751-768.
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. Вплив похідних дигідропіролу та малеїміду на стан печінки і товстої кишки щурів у нормі та в умовах індукованого диметилгідразином колоректального раку / Г.М. Кузнецова, О.В. Линчак, М.О. Данилов [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2013. – Т. 85, № 3. – С. 74-84.
8. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли – М.: Мир, 1969. – 648 с.
9. Парфенов А. И. Энтерология / А.И. Парфенов – М.: Триада-Х, 2002. – 724 с.
10. Патент на корисну модель № 22204 (UA), А61К31/40. Сполука 1,4-заміщених 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-онів, що має протиракову активність / Г.Г. Дубініна, Ю.М. Воловенко; заявник і власник Г. Г. Дубініна, Ю.М. Воловенко. – № u200601855; заявл. 21. 02. 2006; опубл. 25. 04. 2007, Бюл. № 5.
11. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клинических исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева – М.: ГЭОТАР Медицина, 2006 – 304 с.
12. Bozzetti F. The Site of the Tumor. Not the Type of Operation. Determines the Worse Prognosis of the Low Rectal Cancer / F. Bozzetti // Ann. Surg. – 2006. – Vol. 244, № 2 – P. 330-331.

13. Tsai C.-J. The molecular basis of targeting protein kinases in cancer therapeutics / C.-J. Tsai, R. Nussinov // Seminars in Cancer Biology. – 2013. – Vol. 23, I. 4. – P. 235-242.

14. Yablonska S. Manifestation of antiproliferative effects of new kinase inhibitor in respect of normal cell / S. Yablonska, O. Lynchak, O. Filinska // The FEBS Journal. – 2009. – Vol. 276, № 1. – P. 352.

Резюме

Єна М.С., Кузнецова Г.М., Линчак О.В., Рыбальченко В.К. Вплив різних доз інгібітора протеїнкіназ похідного малеїміду на стан слизової оболонки сліпої кишки щурів.

Досліджено вплив різних доз похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1Н-пірол-2,5-дион (MI-1) на морфо-функціональний стан слизової оболонки сліпої кишки щурів. Встановлено, що MI-1 у дозах 2,7 мг/кг, 13,5 мг/кг та 27 мг/кг не викликає значних морфологічних змін слизової оболонки сліпої кишки як відділу товстої кишки, що вказує на перспективність досліджень даної сполуки з метою створення протипухлинних засобів.

Ключові слова: похідне малеїміду, інгібітор протеїнкіназ, слизова оболонка сліпої кишки.

Резюме

Єна М.С., Кузнецова Г.М., Линчак О.В., Рыбальченко В.К. Влияние различных доз ингибитора протеинкиназ производного малеимида на состояние слизистой оболочки слепой кишки крыс.

Исследовано влияние различных доз производного малеимида 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1Н-пиррол-2,5-дион (MI-1) на морфо-функціональное состояние слизистой оболочки слепой кишки крыс. Установлено, что MI-1 в дозах 2,7 мг/кг, 13,5 мг/кг и 27 мг/кг не вызывает значительных морфологических изменений слизистой оболочки слепой кишки как отдела толстого кишечника, что указывает на перспективность исследований данного соединения с целью создания противоопухолевых средств.

Ключевые слова: производное малеимида, ингибитор протеинкиназ, слизистая оболочка слепой кишки.

Summary

Yena M.S., Kuznietsova H.M., Lynchak O.V., Rybalchenko V.K. Effect of different doses of protein kinase inhibitor maleimide derivative on state of rat caecum mucosa.

The influence of different doses of maleimide derivative 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione (MI-1) on the morpho-functional state of rat caecum mucosa was investigated. No significant morphological changes of caecum mucosa caused by MI-1 applied at doses of 2.7 mg/kg, 13.5 mg/kg and 27 mg/kg were determined, which indicates the purpose of MI-1 investigations for anticancer drug creation.

Key words: maleimide derivate, protein kinase inhibitor, caecum mucosa.

Рецензент: д.біол.н., с.н.с. Т.М. Фалалєєва