

7. Охотський Б.О. Медові ласощі / Б.О. Охотський // Пасіка. - 2011. - № 1. - С.18-19.

8. Пересадин Н.А. Апи + Фито. Пчѣлы и травы для твоего здоровья / Н.А. Пересадин, Т.В. Дьяченко. - М. : АСТ; Донецк : Сталкер, 2006.- 140с.

9. Тименский П.И. Приусадебная пасаека. - М.: Агропромиздат, 1988.-271с.

10. Филиппова И.А. Здоровье на крыльях пчелы. - СПб. : А.В.К. - Тимошка, 2002. - 128 с.

11. Фролов В.М. Апи- и фитотерапия при стрептококковых заболеваниях кожи / В.М. Фролов, Н.А.Пересадин // Пчеловодство. - 1993. - № 10. - С.38-39.

12. Фролов В.М. Лечение и профилактика синдрома повышенной утомляемости. / В.М. Фролов, Н.А. Пересадин // Пчеловодство. - 2007. - № 3. - С.56-58.

Резюме

Дьяченко В.Ф. Особенности работы с медоносными пчѣлами в климато-географических условиях востока Украины (из личного опыта пасечника-аматора).

В статье представлены материалы личного опыта пчеловода-аматора по оптимизации пчеловодения в условиях востока Украины.

Ключевые слова: пчелы, климато-географические условия.

Резюме

Д'яченко В.Ф. Особенности работы с медоносными бджолами в климато-географических условиях востока Украины (из личного опыта пасечника-аматора).

У статті представлені матеріали особистого досвіду бджоляра-аматора по оптимізації бджоловодства в умовах сходу України.

Ключові слова: бджоли, климато-географічні умови.

Summary

D'yachenko V.F. Features of work with melliferous bees in the climatic and geographical terms of the Ukraine east (from the personal experience of bee-keeper-amator).

In the article materials of the personal experience of beekeeper-amator are presented on optimization of beekeeping in the conditions of the east of Ukraine.

Key words: bees, climatic and geographical terms.

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

УДК 616.018: 612.335+57.044

ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ ЦИТОСТАТИЧНОЇ СПОЛУКИ ПОХІДНОГО ДИГІДРОПІРОЛУ І 5-ФТОРУРАЦИЛУ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ЩУРІВ

Г.М.Кузнєцова, Г.В.Островська, Ю.М.Воловенко,
В.К.Рибальченко

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка

Вступ

Проблема пошуку ефективних і малотоксичних протипухлинних препаратів на сьогоднішній день є дуже актуальною. Останнім часом дослідження спрямовуються на інгібітори Тиркіназ як специфічні інгібітори проліферативної активності [1]. Але їх системний вплив, зокрема на нормальні інтенсивно проліферуючі тканини, є малодослідженим. В той же час висока частота і тяжкість побічних ефектів на саме ці тканини часто є визначальною при виборі протипухлинної терапії та значною мірою впливає на її ефективність [2,3]. На сьогодні поширеними протипухлинними препаратами є антиметаболіти, зокрема структурні аналоги нуклеотидів, які порушують синтез ДНК і таким чином пригнічують поділ клітин [4]. Через такі особливості найбільш частими побічними ефектами при терапії є ускладнення з боку системи кровотворення і шлунково-кишкового тракту. Мають місце атрофічні, дистрофічні зміни епітелію ШКТ, особливо тонкого кишечника, запальні інфільтрації слизової і підслизової оболонки [2]. Тому метою даної роботи було дослідження впливу похідного дигідропіролу (1,4-заміщеного 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-ону), далі Д1, на слизову оболонку кишечника здорових щурів *in vivo*. Д1 було синтезовано на хімічному факультеті Київського національного університету імені Тараса Шевченка як структурний аналог таргетних інгібіторів протеїн-кіназ, була показана його висока антипроліферативна активність на 60 ракових клітинних ліній [5]. Ефекти впливу цієї сполуки порівнювали з дією антинеоп-

ластичного засобу 5-фторурацил (2,4-диокси-5-фторпіримідин), який широко використовується в онкологічній практиці.

Матеріали і методи дослідження

Дослідження впливу Д1 і його порівняння з 5-фторурацилом (структурний аналог піримідину) на слизову оболонку тонкого кишечника щурів проводили на білих безпородних щурах-самцях з масою тіла 270 г, які утримувались у стандартних умовах віварію. Д1 вводили *per os* у дозі 2,3 мг/кг маси тіла (що створює концентрацію його в крові 10^{-4} М [5]) розчинним у соняшниковій олії та 15% ДМСО (всього 0,1 мл). 5-фторурацил (5-FU) виробництва Ebewe Pharma Австрія, концентрація 50 мг/мл, вводили інтрагастрально нерозведеним у дозі 45 мг/кг маси тіла ($1/5 LD_{50}$) [4]. Досліджувані речовини вводилися щоденно натщесерце протягом 10 днів. Через 1 добу після останнього введення досліджуваних речовин тварин виводили з експерименту шляхом дислокації шийних хребців.

Піддослідні тварини у кількості 30 шт. були поділені на 4 групи: I (інтактний контроль) - протягом експерименту не проводились ніякі маніпуляції; II (дослідний контроль) - отримували 0,1 мл олії; III (група Д1) - отримували розчин Д1 (0,1 мл); IV (група 5-FU) - отримували розчин 5-FU (0,27 мл). Для гістологічного аналізу брали шматочки порожньої кишки і фіксували у 10% нейтральному сольовому формаліні. Через 2 тижні матеріал заливали в парафін за стандартною методикою [6]. Для гістологічного аналізу виготовляли зрізи товщиною 5-7 мкм, які забарвлювали гематоксилін-еозин-оранжем за стандартною методикою [6] і заключали в канадський бальзам. Препарати аналізували на мікроскопі Olympus BX41 (Olympus Europe GmbH, Японія) з використанням камери Olympus C-5050 Zoom (Olympus Europe GmbH, Японія) і програмного забезпечення Olympus DP-Soft 3.2 для фотознімків, морфометричні дослідження здійснювали за допомогою програми WCIF Image J (роздільна здатність 1600x1200 пікселів). Слизову оболонку тонкого кишечника на поперечному зрізі оцінювали візуально, також вимірювали товщину слизової оболонки, довжину, товщину ворсинок, глибину крипт, товщину строми ворсинки (виміри проводились на ворсинках, перпендикулярних до м'язового шару,

де зріз пройшов по всій довжині ворсинки), висоту епітеліального шару ворсинки, площі ядер епітеліоцитів, площі келихоподібних клітин, також підраховували відносну кількість келихоподібних клітин на латеральній поверхні ворсинки та мітотичний індекс у крипах. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою програми SPSS 10.0: підраховували середнє значення і похибку середнього для кожного параметру, статистичну значимість визначали за допомогою U-тесту Манна-Уїтні.

Отримані результати та їх обговорення

За візуальною оцінкою в групах контролю (I і II) ворсинки слизової оболонки нормальні, листовидної форми, з дещо фенестрованими верхівками. Подекуди спостерігається незначне пошкодження верхівок (злушення, відшарування епітелію) та іноді розширення строми (без ознак запалення і кровостазу). У центральній третині крипт спостерігаються мітотичні фігури, велика кількість келихоподібних клітин (у верхній $1/2-1/3$ частині). Ядра епітеліоцитів світлі, довгасті, з вираженими 2-3 ядерцями. Підслизова оболонка тонка, без змін. Морфометричні дані наведені в табл.1, з якої видно, що значення деяких параметрів дещо відрізняються у групах інтактного і дослідного контролю. Надалі групою порівняння виступатиме дослідний контроль.

У групі III (Д1) ворсинки слизової оболонки іноді розширені, з дещо збільшеним кровонаповненням, інфільтрацією строми лімфоцитами. Для цієї групи є характерною десквамація епітелію у верхній чверті ворсинки, а іноді практично по всій її довжині, хоча зустрічаються і ворсинки без патологічних змін. Незначні осередки запалення спостерігаються рідко. Порівняно з контролем вірогідно зростає глибина крипт (на 7,6%) (рис.1), товщина ворсинок (на 12,3%) і товщина строми ворсинок (на 14,4%) (рис.2), а також площа ядер епітеліоцитів (на 5,6%) і площа келихоподібних клітин (на 10,3%) (рис.3). Також істотно зростає відносна кількість келихоподібних клітин (на 20,1%) (рис.4). Це свідчить, що токсична дія Д1 спрямована в основному на епітелій ворсинок тонкого кишечника - поширена його десквамація, що не викликає подиву, оскільки саме епітеліальний шар першим контактує з токсикантом. Збільшення глибини крипт, морфологічні зміни епітеліоцитів, зміни секреторного

апарату ворсинок можуть свідчити [7] про розвиток пристосувальних реакцій кишечника, результатом чого є активація оновлення епітелію і посилення слизоутворення. Також варто відмітити відсутність значимого зниження мітотичного індексу в криптах, тобто Д1, будучи потенційним протипухлинним препаратом, за короткотривалого впливу не пригнічує поділ нормальних клітин, що є позитивною ознакою.

Таблиця 1

Морфометричні дані слизової оболонки тонкого кишечника щурів I-IV груп

	Контроль інтактний	Контроль дослідний	5-фторурацил	Д1
товщина слизової оболонки, мкм	754,9±15,6***	809,9±14,0	822,6±28,5	833,2±22,3
довжина ворсинки, мкм	538,9±14,0	549,4±15,3	525,0±22,0	561,8±19,1
глибина крипти, мкм	199,9±6,9***	229,8±6,9	282,22±15,6***	247,3±5,2***
товщина ворсинки, мкм	106,9±6,6***	91,1±2,5	110,7±5,5***	102,2±4,0***
товщина строми, мкм	43,6±3,6***	32,3±1,2	44,22±5,2***	36,9±2,2*
висота епіт. шару, мкм	24,4±0,9*	26,0±0,8	51,19±7,4***	26,9±0,8
площа ядра епітеліоцитів, мкм ²	33,5±1,6	31,7±0,8	38,88±1,4***	33,5±0,9*
площа келихоподібних клітин, мкм ²	98,3±4,5**	89,8±3,8	94,9±5,8	99,0±3,6***
мітотичний індекс, %	7,9±1,2	8,1±0,7	6,1±0,8**	7,5±0,6
відносна кількість келих. клітин, %	11,7±1,3	12,0±1,2	14,0±1,7	14,4±1,0**

Примітки: * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001.

На препаратах групи IV (5-FU) ворсинки переважно нормальної товщини, але фенестровані практично по всій апікально-латеральній поверхні, часто покручені. В одному випадку мала місце повна атрофія слизової оболонки. Епітеліальна вистилка ворсин нормально розвинена, без десквамацій. Іноді зменшується кількість келихоподібних клітин у криптах, часто спостерігається витонщення стінки крипт. Гемостази і запалення

для цієї групи не характерні. Порівняно з контролем вірогідно зростає глибина крипт (на 22,8%) (рис.1), товщина ворсинок (на 20,8%), товщина строми ворсинок (на 37%). Практично в 2 рази (на 96,8%) зростає висота епітеліоцитів ворсинки (рис.2), на 22,5% збільшується площа їх ядер (рис.3). Також значно зменшується мітотичний індекс крипт (на 24,6%) (рис.4).

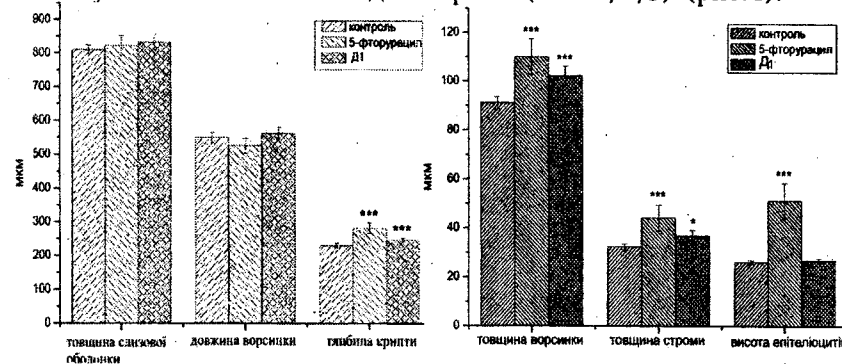


Рис. 1. Товщина слизової оболонки, довжина ворсинки, глибина крипти слизової оболонки тонкого кишечника щурів II-IV груп (* p<0,05; **p<0,01; *** p<0,001).

Рис. 2. Товщина ворсинки, товщина строми ворсинки, висота епітеліального шару ворсинки слизової оболонки тонкого кишечника щурів II-IV груп (*p<0,05; **p<0,01; ***p<0,001).

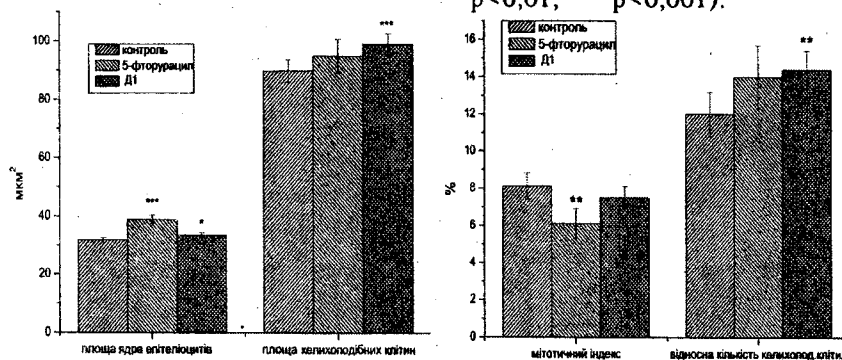


Рис. 3. Площа ядра епітеліоцитів, площа келихоподібних клітин ворсинок слизової оболонки тонкого кишечника щурів II-IV груп (* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001).

Рис. 4. Мітотичний індекс, відносна кількість келихоподібних клітин ворсинок слизової оболонки тонкого кишечника щурів II-IV груп (* p<0,05 ** p<0,01 *** p<0,001).

Отже, токсична дія 5-FU проявляється в основному пригніченням фізіологічного відновлення епітелію слизової оболонки (зниження мітотичного індексу, дистрофічні зміни ворсинок: атипія форми, набряк строми). Незважаючи на збідненість крипт на келихоподібні клітини за візуальною оцінкою, вірогідних кількісних змін у секреторному апараті ворсинок не спостерігається, можливо, через короткотривалість дії препарату. Морфологічні зміни епітеліоцитів, збільшення глибини крипт можуть свідчити [7] про розвиток пристосувальної реакції слизової у вигляді збільшення "терміну життя" епітеліоцитів.

Висновки

Токсична дія Д1 при пероральному введенні спрямована в основному на епітелій слизової оболонки тонкого кишечника у щурів, що проявляється у підвищеній його десквамації. На відміну від 5-FU, Д1 не викликає дистрофічних змін слизової оболонки. На кровоносне русло ворсинок слизової оболонки дана речовина впливає мало (набряк строми ворсинок незначний, кровостазі і запалення не характерні), тоді як 5-FU змінює відповідні параметри більшою мірою. Д1 вірогідно не впливає на мітотичний індекс крипт, тоді як 5-FU пригнічує поділ клітин досить значно. Результатом компенсаторно-пристосувальних реакцій організму на дію Д1 є посилення слизоутворення, тоді як при дії 5-FU спостерігається збільшення тривалості життя епітеліоцитів.

В цілому Д1 впливає на слизову оболонку тонкого кишечника щурів менш токсично, ніж 5-FU, і тому є перспективним у плані подальших досліджень як потенційний протипухлинний препарат.

Література

1. Dancey J. Issues and progress with protein kinase inhibitors for cancer treatment / J.Dancey, E.A.Sausville // *Nature Rev.Drug Discovery*. - 2003. - V.2, №4. - P.296-313.
2. Олійниченко П.И. Справочник по полихимиотерапии опухолей / П.И.Олійниченко, З.П.Булкина, Т.И.Синиборода. - Киев : Здоровье, 2000. - 301 с.
3. 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.

4. Інструкція до використання 5-фторурацилу виробництва "Ebewe Pharma" Австрія.

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

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

7. Кравець В.В. Морфологічні зміни в тонкій кишці під впливом різних ендогенних та екзогенних чинників (огляд літератури) / В.В.Кравець // *Вісник СумДУ. Серія медицина*. - 2008. - № 1. - С.5-16.

Резюме

Кузнецова Г.М., Островська Г.В., Воловенко Ю.М., Рыбальченко В.К. Порівняння впливу цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу на слизову оболонку тонкого кишечника щурів.

Зроблено порівняння впливу цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу (Д1) і антипроліферативного препарату 5-фторурацилу на слизову оболонку тонкого кишечника здорових щурів. Показано, що Д1 є менш токсичним для слизової оболонки, ніж 5-фторурацил.

Ключові слова: тонкий кишечник, слизова оболонка, похідне дигідропіролу, 5-фторурацил.

Резюме

Кузнецова Г.Н., Островская Г.В., Воловенко Ю.М., Рыбальченко В.К. Сравнение влияния цитостатического соединения производного дигидропиррола и 5-фторурацила на слизистую оболочку тонкого кишечника крыс.

Проведено сравнение влияния цитостатического соединения производного дигидропиррола (Д1) и антипролиферативного препарата 5-фторурацил на слизистую оболочку тонкого кишечника здоровых крыс. Показано, что Д1 является менее токсичным для слизистой оболочки по сравнению с 5-фторурацилом.

Ключевые слова: тонкий кишечник, слизистая оболочка, производное дигидропиррола, 5-фторурацил.

Summary

Kuznetsova G.M., Ostrovska G.V., Volovenko Yu.M., Rybalchenko V.K. The comparison of influence of cytostatic compound dihydropyrrrol derivative and 5-fluoruracil on rat small intestine tunica mucosa.

The comparison of influence of cytostatic compound dihydropyrrrol derivative (D1) and antiproliferative drug 5-fluoruracil on rat small intestine tunica mucosa was made. Lesser toxicity of D1 in comparison with 5-fluoruracil was observed.

Key words: small intestine, tunica mucosa, dihydropyrrrol derivative, 5-fluoruracil.

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