

DOI: 10.26693/jmbs02.04.161

УДК 57. 044: 612. 018 [612. 363+612. 335]

Єна М. С.

ВПЛИВ КОМБІНАЦІЙ ПОХІДНОГО ПІРОЛУ MI-1 З ПРЕДНІЗОЛОНОМ НА МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН СЛІПОЇ КИШКИ ЩУРІВ ПРИ ВИРАЗКОВОМУ КОЛІТІ

Київський медичний університет

yenamaryna.7@gmail.com

Досліджено стан слизової оболонки сліпої кишки щурів за умов дії похідного піролу MI-1 у поєднанні з глюкокортикоїдним препаратом – преднізолоном при виразковому коліті. Встановлено, що дане поєднання преднізолон+MI-1 виявляє проти-запальні та протекторні властивості і може бути перспективним засобом для терапії запальних захворювань кишки.

Ключові слова: виразковий коліт, преднізолон, похідне малеїміду, слизова оболонка сліпої кишки.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дана робота є фрагментом науково-дослідної роботи Київського національного університету імені Тараса Шевченка «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій», № держ. реєстрації 0111U004648.

Вступ. Виразковий коліт є однією із найбільш серйозних проблем сучасної гастроентерології, що обумовлено його постійною зростаючою поширеністю в усьому світі, хронічним, неухильно прогресуючим перебігом з ризиком розвитку кишкових і позакишкових ускладнень [1]. Наслідком хронічної форми виразкового коліту у більшості випадків може бути розвиток злоякісних новоутворень – коло-ректального раку [2].

Перспективним здобутком для лікування злоякісних новоутворень є таргетні препарати, що характеризуються високою протипухлинною активністю й значно меншою токсичністю, порівняно з класичними цитостатиками, а також мають проти-запальні властивості [3, 4].

До препаратів цього класу відносять похідне піролу 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1), що синтезоване методом *in silico* дизайну Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету імені Тараса Шевченка [5], що має виражену цитостатичну дію, показану на лініях трансформованих [6] і ракових клітин [7]. Також установ-

лено, що похідне малеїміду сприяє зменшенню запалення, що супроводжує розвиток раку, та оксидативного стресу [8]. Отже, дослідження впливу похідного малеїміду на розвиток виразкового коліту є перспективним із погляду можливості застосування цієї сполуки за умов передракових станів для попередження злоякісного переродження клітин слизової оболонки товстої кишки.

Тому **метою роботи** було оцінити вплив комбінації преднізолон+MI-1 на стан слизової оболонки сліпої кишки щурів за умов виразкового коліту.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проведено відповідно до загальноприйнятих біоетичних норм гуманного поводження з лабораторними тваринами згідно з національними та міжнародними положеннями стосовно проведення експериментальних робіт («Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних і наукових цілей» (Страсбург, 1986); «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом біоетики (Київ, 2001).

Експерименти проводили протягом двох тижнів на білих нелінійних щурах обох статей, які утримували на стандартному раціоні віварію. Модель виразкового коліту відтворювали 2-кратним ректальним введенням 1мл 4% розчину оцтової кислоти з інтервалом в один тиждень. MI-1 у дозі 2,7 мг/кг вводили щоденно інтрагастрально, розчиненим у соняшниковій олії, що містять 15 % ДМСО (всього 0,1 мл). Преднізолон (ПрАТ «БІОФАРМА», Україна, розчин для ін'єкції) у дозі 0,7 мг/кг [9] вводили щоденно внутрішньоочередово розведеним у фізіологічному розчині. Контрольні тварини отримували відповідні розчинники. На макроскопічному рівні оцінювали стан слизової оболонки сліпої кишки за 10-бальною шкалою згідно з Sehirli та ін. (2009) [10]. Після стандартної гістологічної обробки сегменти сліпої кишки заливали у парафін, зрізи забарвлювали гематоксилином-еозином [11]. Стан слизової оболонки на мікро- рівні оцінювали за 11-бальною шкалою згідно з Appleyard and Wallace, (1995)

[12]. Ступінь запального ураження сліпої кишки обчислювали як суму балів за мікро- і макро- пошкодженнями. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали методами варіаційної статистики за допомогою пакета програм SPSS 16.0 [13].

Результати досліджень та їх обговорення.

Контроль. У контрольній групі щурів обох статей слизова оболонка сліпої кишки має типову гістологічну будову, що характерна для даного виду піддослідних тварин, без ознак патологічних станів.

Виразковий коліт. При огляді тварин обох статей при виразковому коліті спостерігається скуповлена шерсть тварин, «мокрый хвіст», неоформлені ви породження, що є явними ознаками діареї. Крім цього, на макрорівні при виразковому коліті спостерігаються розширення слизової оболонки у тварин обох статей та спайки між петлями кишки у самок.

При гістологічному опису препаратів сліпої кишки у тварин обох статей при виразковому коліті помітно набряк та лімфо-інфільтрація слизової оболонки. Однак, у самців інфільтрація лімфоцитами мала більш ускладнений процес з появою гіперплазованої лімфоїдної тканини. Також, мало місце зміна судинного русла у самців у вигляді розширення судин. У підслизовій основі у самців спостерігалася інфільтрація лімфоцитами, яка мала поодинокий характер. У серозному шарі – лімфо-інфільтрація та набряк у самців, а також розширення кровоносних капілярів, артерій і вен дрібного калібру у тварин обох статей. Загальне пошкодження кишки за методикою [10, 12] відповідає 9,2 балам у самців, а у самок – 9,4 балам. Порівняно з контролем вірогідно зростають: мітотичний індекс у тварин обох статей, площа келихоподібних клітин та відносна кількість келихоподібних клітин у самців, висота колоноцитів у самок, а також зменшується товщина слизової оболонки та глибина крипт у тварин обох статей, у самок – ширина крипт, площа ядер колоноцитів, площа келихоподібних клітин та відносна кількість келихоподібних клітин. Зміни морфометричних показників можуть свідчити про запальний процес у слизовій оболонці, інтенсивну проліферацію клітин у тварин обох статей, збільшується кількість продукованого слизу у самців, а також у самок – незрілість (низьку функціональну активність) епітелію слизової оболонки, зменшення кількості продукованого слизу та здавлення крипт набряклою стромою.

Таким чином, гістологічні зміни разом з морфометричними показниками у тварин обох статей свідчать про розвиток виразкового коліту [14].

Преднізолон+MI-1. За умов дії комбінації преднізолон+MI-1 при змодельованому виразковому

коліті на макроскопічному рівні у щурів-самців пошкодження кишки не спостерігалось, а у щурів-самок помітна гіперемія та спайки між петлями кишки.

При дії преднізолон+MI-1 у щурів обох статей при гістологічному описі спостерігається лімфо-інфільтрація та набряк власної пластинки слизової оболонки, а також розростання лімфоїдної тканини. Водночас у самців помітні виражені зміни у мікроциркуляторному руслі у вигляді розширення капілярів. А також, у серозній оболонці у щурів-самців спостерігається розширення судин та потовщення їх стінок. Так, загальне пошкодження кишки за методикою [10, 12] відповідає 2,7 балам у самців, а у самок – 4,6 балам.

У порівнянні з морфометричними показниками контрольної групи вірогідно зростають: товщина слизової оболонки у тварин обох статей, та знижуються: у самок – глибина крипт, ширина крипт, площа ядер колоноцитів. Зміни морфометрії можуть свідчити про запальний процес у слизовій оболонці у тварин обох статей, а також у самок – посилення секреції слизу як адаптивної реакції і відповідно «розтягнення» слизом крипт та пригнічення функціональної активності колоноцитів.

Отриманні дані свідчать, що за умов дії преднізолон+MI-1 на тлі виразкового коліту спостерігаються пошкодження кишки у самок на макроскопічному рівні, тоді як у самців вони були відсутні. А також, на мікро- рівні у порівнянні з групою коліт пригнічує запальний процес у щурів обох статей. Порівнюючи комбінацію преднізолон+MI-1 між обома статями спостерігається зменшення запального процесу у самців, ніж у самок, що вказує на більшу схильність самок до запальних захворювань кишки та меншу чутливість до терапії протизапальними засобами

Таким чином, комбінація преднізолон+MI-1 пригнічує запальний процес та сприяє відновлення слизової оболонки сліпої кишки, тобто виявляє протизапальну та захисну дію.

Висновки. Комбінація MI-1 разом з протизапальним засобом – преднізолоном при застосуванні за умов коліту виявляє протизапальну та захисну дію щодо сліпої кишки у тварин обох статей, а також пригнічує запальний процес та сприяє відновленню цілісності слизової оболонки кишки.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження похідного піролу MI-1 є перспективною сполукою для створення протипухлинних та протизапальних засобів на його основі, а також для попередження розвитку передпухлинних захворювань, таких як виразковий коліт.

References

1. Kaser A, Zeissig S, Blumberg R. Inflammatory Bowel Disease. *Annu Immunol*. 2010; 28: 573–621. PMID: 20192811. PMCID: PMC4620040. DOI: 10.1146/annurev-immunol-030409-101225.
2. Ullman TA, Itzkowitz SH. Intestinal inflammation and cancer. *Gastroenterology*. 2011 May; 140 (6): 1807–16. PMID: 21530747. DOI: 10.1053/j.gastro.2011.01.057.
3. Imyanitov EN. Obshchie predstavleniya o targentnoy terapii. *Prakt onkologiya*. 2010; 11 (3): 123–30. [Russian].
4. Tsai C-J, Nussinov R. The molecular basis of targeting protein kinases in cancer therapeutics. *Seminars in Cancer Biology*. 2013; 23 (4): 235–42.
5. Patent 22204 Ukraine, АБ1К31/40. Spoluka 1,4-zamishchenykh 5-amino-1,2-dyhidropirol-3-oniv, shcho maye protyrakovu aktyvnist / Dubinina HH, Volovenko YuM; zayavnyk i vlasnyk patentu HH Dubinina, YuM Volovenko Ukraine (UA). № u200601855; zayavl. 21.02.2006; opubl. 25.04.2007. Byul № 5. [Ukrainian].
6. Nalini N, Aranganathan S, Kabalimurthy J. Chemopreventive efficacy of hesperetin (citrus flavonone) against 1,2-dimethylhydrazine-induced rat colon carcinogenesis. *Toxicol Mech Methods*. 2012; 22 (5): 397–408. PMID: 22409373. DOI: 10.3109/15376516.2012.673092.
7. Garmanchuk LV, Ribalchenko VK, Ostapchenko LI, et al. MI1 – derivative of maleimide inhibits cell cycle progression in tumor cells of epithelial origin. *Biopolymers and Cell*. 2013; 29 (1): 70–4.
8. Yena M, Kuznyetsova H, Dzyubenko N, Ribalchenko V. Vplyv pokhidnykh pirolu na slizovu obolonku tovstoy kishki shchuriv, porivnyano z hlyukokortikoidnim preparatom, za umov rozvitku eksperimentalnoho kolitu. *Naukoviy visnik Skhidnoyevropeyskoho natsionalnoho universitetu imeni Lesi Ukrainki*. 2015; 12 (313): 42-9. [Ukrainian].
9. Abdueva FM, Bychkova OYu, Bondarenko IA, i dr. *Terapevticheskaya farmakologiya*. Pod obshchey redaktsiyei NI Yabluchanskoho, VN Savchenko. Kharkov: KhNU im VN Karazina, 2011. 483 s. [Russian].
10. Ahmet Özer Şehirli, Elif Tathdede, Meral Yüksel, Şule Çetinel, Can Erzik, Berrak Yeğen, Göksel Şener. Protective effects of alfa-lipoic acid against oxidative injury in TNBS-induced colitis. *Erciyes Tip Dergisi (Erciyes Medical Journal)*. 2009; 31 (1): 015–026.
11. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. *Osnovy histolohichnoi tekhniki i morfo-funktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohiyi*. Zhytomyr: Polissya, 2005. 288 s. [Ukrainian].
12. Appleyard CB, Wallace JL. Reactivation of hapteninduced colitis and its prevention by anti-inflammatory drugs. *Am J Physiol*. 1995; 269: G119–G125. PMID: 7631788.
13. Sergienko VI, Bon-dareva IB. *Matematicheskaya statistika v klinicheskikh issledovaniyakh*. M: Geotar Meditsina, 2006. 304 s. [Russian].
14. Strukov AI, Serov VV. *Patologicheskaya anatomiya: uchebnik*. 5-e izd, ster. M: Litterra, 2010. 848 s: il. [Russian].

УДК 57. 044: 612. 018 [612. 363+612. 335]

ВЛИЯНИЕ КОМБИНАЦИЙ ПРОИЗВОДНОГО ПИРОЛА МИ-1 С ПРЕДНИЗОЛОНОМ НА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ СЛЕПОЙ КИШКИ КРЫС ПРИ ЯЗВЕННОМ КОЛИТЕ

Ена М. С.

Резюме. Исследовано состояние слизистой оболочки слепой кишки крыс в условиях совместного действия производного малеимида с глюкокортикоидным препаратом – преднизолоном при язвенном колите. Установлено, что данное сочетание проявляет противовоспалительное и протекторное свойства и может быть перспективным средством для терапии воспалительных заболеваний кишечника.

Ключевые слова: язвенный колит, преднизолон, производное малеимида, слизистая оболочка слепой кишки.

UDC 57.044:612.018[612.363+612.335]

Influence of Pyrrole Derivatives MI-1 Combinations with Prednisolone on State Morpho-Functional Caecum of Rats with Ulcerative Colitis

Yena M. S.

Abstract. In recent years there has been a fairly high level of digestive system precancerous, which tends to increase. This remains a topical issue in modern medicine. Often one of the causes of cancer is impaired tyrosine kinase activation processes, which regulate different stages of growth and proliferation of cells. Therefore, a promising trend in modern medicine is associated with targeted highly selective medicinal products, in particular membrane tyrosine kinase inhibitors characterized by high antitumor, anti-inflammatory activity and lower toxicity as compared with traditional cytostatics. Medicinal products in this class include maleimidepyrrole derivative (MI-1) in silico synthesized at Research and Production Biochemical Center of Taras Shevchenko National University. These products are targeted inhibitors of protein kinase, which due to the spatial structure of

the molecule interacts with the ATP-binding centre of tyrosine protein kinases and is their effective blocker. Since the cytotoxic effect of the medicinal product MI-1 has been demonstrated on the transformed line and cancer cells, it is said to be a potential compound for using in clinical practice. The aim of the study was to evaluate the effect of the combination of prednisolone + MI-1 on the caecum mucosa on rats with ulcerative colitis.

The studies were conducted on white mongrel male rats. The rats were housed under standard environmental conditions ($23\pm 1^{\circ}\text{C}$, $55\pm 5\%$ humidity and a 12-h light: 12-h dark cycle) and maintained with free access to water and a standard laboratory diet ad libitum.

The study was conducted in accordance with the generally accepted bioethical standards of humane treatment of laboratory animals, in accordance with national and international regulations on carrying out experimental tests ("European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for experimental and other scientific purposes" (Strasbourg, 1986), "General Ethical Principles of Animal Experiments", adopted by the First National Congress on Bioethics (Kyiv, 2001).

The model of ulcerative colitis was reproduced by 2-fold rectal administration of 1 ml of a 4% solution of acetic acid at intervals of one week. MI-1 at a dose of 2.7 mg/ kg was injected dissolved in sunflower oil containing 15% DMSO (0.1 ml in total) per os. Prednisolone (PJSC "BIOFARMA", Ukraine, solution for injection) at a dose of 0.7 mg/ kg was injected intraperitoneally in dilute physiological saline solution. Control animals received oil containing 15 % DMSO (0.1 ml in total).

The obtained data indicate that under the conditions of exposure to prednisolone + MI-1 in the background of ulcerative colitis, intestinal damage is observed in females at the macroscopic level, whereas in males they were absent. On the micro level, in comparison with the colitis group, there was a suppressed inflammation in the rats of both sexes. Comparing the combination of prednisolone + MI-1 between both sexes, there is a decrease in the inflammatory process of males, which indicates a greater tendency of females to inflammatory bowel disease and lower sensitivity to anti-inflammatory therapy.

Thus, the combination of prednisolone + MI-1 suppresses inflammation and promotes the restoration of the intestinal mucosa, that is, it exhibits anti-inflammatory and protective effects.

Keywords: ulcerative colitis, prednisolone, maleimadepyrrole derivative, intestinal mucosa.

Стаття надійшла 23.08.2017 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування