ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 572.7 : 611.341 : 615.277.3 Надійшла 18.04.2015

Г. О. БОНДАРЧУК, А. О. ГАВРИЛЮК

МОРФОЛОГІЧНІ ПРОЯВИ РЕАКЦІЇ МІКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СТІНКИ ТОНКОЇ КИШКИ ЩУРІВ В УМОВАХ ДІЇ ЦИКЛОФОСФАМІДУ НА РАННІХ ТЕРМІНАХ

Кафедра патологічної анатомії, судової медицини та права (зав. – проф. А. О. Гаврилюк)
Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова <visichko@gmail.com>

Дослідження присвячене встановленню морфологічних проявів реакції компонентів мікроциркуляторного русла оболонок тонкої кишки на одноразове введення циклофосфаміду. Експеримент проводили на 36 білих безпородних щурах. Доведено, що в умовах дії циклофосфаміду до третьої доби структура мікроциркуляторного русла не відновлюється, а значення питомої ваги її компонентів достовірно відрізняються від контрольних.

Ключові слова: тонка кишка, мікроциркуляторне русло, циклофосфамід.

Патологічні стани, викликані побічною дією циклофосфаміду, іноді зумовлюють неможливість використання заздалегідь ефективних схем лікування [1, 4]. Для коректного пошуку модифікаторів токсичності циклофосфаміду необхідні дані про всі складові патологічного процесу, викликаного дією препарату. Одним з проявів токсичної дії цитостатика є мукозит, що має прояви на різних рівнях травної трубки і найбільш небезпечний з них – ушкодження тонкої кишки, клінічна картина яких має значну інтенсивність вираження [6]. Морфологічним проявам цитотоксичної дії препарату приділена увага дослідників, але недостатньо вивчено реакцію і перебудову судин мікроциркуляторного русла тонкої кишки в умовах дії циклофосфаміду [3, 5].

Мета дослідження – встановити морфологічні зміни мікроциркуляторного русла стінки тонкої кишки щурів після одноразового введення циклофосфаміду через 1, 2 та 3 доби.

Матеріали і методи. е ксперимент проведено на 36 статевозрілих білих безпородних щурах обох статей, яких утримували на звичайному раціоні у віварії, контрольну групу становили 9 тварин. Циклофосфамід вводили 27 тваринам одноразово внутрішньоочеревинно з розрахунку 1270 мг/кг згідно з рекомендаціями ю . Р. Риболов'єва [2]. Щурів розподілено на три групи по 9 у кожній. Виведення з експерименту здійснювали згідно з вимогами до евтаназії передозуванням наркозу з кожної серії по 9 щурів через 1, 2 та 3 доби після введення цитостатика. Для морфологічного дослідження зрізи тонкої кишки забарвлювали гематок-

© Г. О. Бондарчук, А. О. Гаврилюк, 2017

силіном і еозином. Морфометрично (із застосуванням пакета програм «Promorph Paradise») обчислювали питому вагу кровоносних та лімфатичних судин, інтерстиційних просторів і клітин та міжклітинної речовини у слизовій, підслизовій та м'язовій оболонках. Статистичну обробку проведено за пакетом «STATISTICA 5.5» з використанням параметричних методів оцінки даних. Увагу приділяли показникам, різниця величин яких була достовірною при $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення. Через 1 добу після введення циклофосфаміду у власній пластинці слизової оболонки відмічено вогнищеві ознаки набряку з вираженою лейкоцитарною інфільтрацією. Судини лімфатичного русла були значно та рівномірно більшими за шириною, ніж у контролі, але спостерігали і поодинокі кровоносні судини менші за діаметром. Питома вага лімфатичних судин (8,67 % ± 1,17 %) була вищою, ніж в контролі (5,53 % ± 0,81 %), на 56,8 % ($P < 0,05$) (таблиця). Кровоносні капіляри у поодиноких полях зору були значно більші за діаметром, але у більшості вони мали менший розмір (3,30 % ± 0,68 %), ніж у контролі (4,21 % ± 0,99 %), що ми розцінювали як прояв більшої їх лабільності, ніж лімфатичних (див. таблицю).

Результати морфометричного дослідження препаратів тонкої кишки контрольної групи щурів та під впливом одноразового введення циклофосфаміду ($M \pm m$)

Анатомічна структура	Термін, доба	Питома вага, %			
		кровоносних судин	лімфатичних судин	інтерстиційних просторів	клітин та міжклітинної речовини
Власна пластинка слизової оболонки	К	4,21 ± 0,99	5,53 ± 0,81	3,29 ± 0,89	86,97 ± 0,87
	1	3,30 ± 0,68	8,67 ± 1,17	4,97 ± 1,47	83,06 ± 0,89
	2	2,62 ± 0,85	8,91 ± 0,91	6,18 ± 0,98	82,29 ± 1,85
	3	2,17 ± 1,36	10,34 ± 0,86	6,78 ± 1,11	80,75 ± 2,57
Підслизова основа	К	4,91 ± 0,91	7,23 ± 1,14	5,61 ± 0,95	82,25 ± 1,74
	1	6,61 ± 1,41	15,1 ± 2,05	9,76 ± 0,94	68,98 ± 2,12
	2	7,31 ± 0,91	18,4 ± 2,04	12,53 ± 1,04	61,79 ± 2,09
	3	7,92 ± 1,16	21,18 ± 1,95	18,30 ± 2,12	52,60 ± 1,52
М'язова оболонка	К	1,58 ± 0,81	2,07 ± 0,71	3,12 ± 0,57	93,23 ± 1,54
	1	2,56 ± 0,73	2,84 ± 0,69	3,70 ± 1,34	90,90 ± 1,69
	2	2,69 ± 1,17	3,52 ± 1,12	4,31 ± 1,58	89,48 ± 1,75
	3	3,28 ± 0,86	4,75 ± 1,31	5,58 ± 2,11	86,39 ± 1,11

Інтерстиційні простори різнилися за площею навколо кровоносних судин та були рівномірно більших розмірів навколо лімфатичних. За рахунок збільшення площі лімфатичних судин та інтерстиційних просторів клітини і міжклітинна речовина, що становили власну пластинку слизової оболонки, виглядали меншими за розмірами. Лімфатичні капіляри і міжклітинні простори були більших розмірів порівняно з групою контролю, що, на нашу думку, викликане травними ферментами, мікроорганізми та продуктами перетравлювання їжі, які потрапили через дефекти епітеліальної вистилки і зумовили запальну реакцію.

У підслизовій основі порожньої кишки щурів через одну добу після одноразового введення циклофосфаміду ознаки набряку були виражені більш рівномірно порівняно з такими у слизовій оболонці. Кровоносні капіляри були більшими за площею порівняно з контролем, але ділянки з меншими за площею судинами відмічали у третини досліджених препаратів. Лімфатичні капіляри помітно більші за площею при статистичному аналізі їх питома вага (15,10 % ± 2,05 %) була вищою ($P < 0,05$) у 2 рази порівняно з контролем (7,23 % ± 1,14 %) (див. таблицю). Відмічено рівномірно більші розміри поперечних перерізів інтерстиційних просторів. Відносна їх площа (9,76 % ± 0,94 %) була на 72,3 % більшою ($P < 0,05$), ніж у контролі (5,61 % ± 0,95 %) (див. таблицю). Відбулося зрушення питомої ваги компонентів підслизової основи здебільшого за рахунок зміщення лімфатич-

ного компонента – питома вага клітин та міжклітинної речовини (68,98 % ± 2,12 %) була нижчою (P < 0,05) на 16,4 %, ніж у контролі (82,25 % ± 1,74 %).

У м'язовому шарі порожньої кишки щурів в умовах однодобової дії циклофосфаміду морфологічні ознаки набряку були найменш виражені серед вищезазначених шарів. Клітини м'язового шару незначно змінені, зустрічалися фрагментовані міоцити. Зміщення співвідношення відносних площ у м'язовому шарі було менш вираженим порівняно з іншими шарами, що можна пояснити незначним його подразненням та менш вираженою запальною реакцією (див. таблицю).

У слизовій оболонці тонкої кишки щурів через 2 доби після введення циклофосфаміду спостерігали рівномірно поширений набряк, нерівномірне наповнення судин, повнокрів'я венулярного ланцюга, набрякання ендотеліоцитів та місцями вихід формених елементів у периваскулярний простір. Розміри лімфатичних судин були дещо більшими порівняно з попередньою групою (див. таблицю). Кровоносні капіляри власної пластинки слизової оболонки місцями були значно більші за шириною та площею, ніж у групі однодобового впливу цитостатика. Менші діаметри кровоносних судин відмічали переважно в артеріолярному ланцюзі. Інтерстиційні простори були значно більші за площею, ніж у контролі. За рахунок розширення венул відмічено нижчу питому вагу клітин та міжклітинної речовини (див. таблицю). На відміну від попереднього терміну, інтервенцію інфільтрату в тканину виявляли вже у стромі ворсин.

У підслизовій основі порожньої кишки щурів через 2 доби після введення цитостатика відмічено прогресування морфологічних проявів набряку порівняно з попередньою групою. Кровоносні капіляри були повнокровні, вогнищево більших розмірів поперечного перерізу та нерідко відмічали ділянки менших за площею кровоносних судин. Лімфатичні капіляри також були більші за площею, ніж у попередній групі, та, на відміну від кровоносних судин, ця ознака мала поширений характер. У підслизовій основі відмічено рівномірно поширені, помітно збільшені розміри інтерстиційних просторів порівняно з групою контролю та попередньою. Відносна їх площа (6,18 % ± 0,98 %) була більшою (P < 0,05) на 28 % порівняно з попередньою групою (4,97 % ± 1,47 %), що ми розцінювали як прояв інтенсифікації набряку. Відбулося зміщення всіх показників у напрямі прогресування запального процесу та набряку (див. таблицю). Розширення кровоносних та лімфатичних капілярів, збільшення площі інтерстиційного простору можна пояснити закономірною відповіддю тканини на продовження дії агресивних компонентів через більш тривалий термін попереднього дослідження, ушкоджений епітеліальний шар глибоко у підслизову основу.

У м'язовому шарі порожньої кишки щурів, яким вводили циклофосфамід та виводили з експерименту через 2 доби, ураження кишки було менш вираженим, ніж у попередньо описаних шарах, але відмічено, що ознаки набряку більш виражені, ніж у попередній групі (див. таблицю). Розміри кровоносних капілярів м'язового шару були нерівномірними: незначно більшими (відносно показників групи однодобового впливу циклофосфаміду) з включеннями поодиноких судин менших розмірів. Лімфатичні судини були більших розмірів, але це явище мало рівномірний характер. Інтерстиційні простори, що оточували дані судини, були більші за площею поперечного перерізу порівняно з попередньою групою. Значного прогресування морфологічних проявів набряку в м'язовій оболонці не відбулося – зміна відносних величин була зовсім незначною серед досліджених шарів (див. таблицю).

Слизова оболонка тонкої кишки щурів через 3 доби після введення циклофосфаміду була значно набряклою. Розширення лімфатичних та кровоносних судин більш виражене, ніж у попередніх групах, але місцями судини були, навпаки, малокровні. Лімфатичні капіляри власної пластинки слизової оболонки більші за шириною, ніж у попередній групі, та їх питома вага (10,34 % ± 0,86 %) збільшилася (P < 0,05) на 86,3 % щодо показника контролю (5,53 % ± 0,81 %) (див. таблицю). Інтерстиційні простори теж були значно та рівномірно збільшені за шириною, їх питома вага (6,78 % ± 1,11 %) більша (P < 0,05) у 2 рази порівня-

но з контролем (3,29 % ± 0,89 %) (див. таблицю). Саме за рахунок вищої питомої ваги інтерстиційних просторів питома вага кровоносних судин незначно зменшилася (до 2,17 % ± 1,36 %) порівняно з показниками у попередніх групах та контролі. Подальший розвиток запального процесу спричинюють розширення капілярів венулярного компонента і, як наслідок, – масивну інфільтрацію строми слизової оболонки порожньої кишки.

У підслизовій основі стінки тонкої кишки щурів через 3 доби після введення циклофосфаміду морфологічні ознаки набряку тканини були більш вираженими, ніж у попередніх групах. На фоні набряку відмічена вогнищева запальна інфільтрація. Лімфатичні та кровоносні капіляри у більшості випадків повнокровні, прояв цього явища був більш вираженим, ніж у попередніх групах дослідження та контролі, місцями – з діапедезними крововиливами. Кровоносні капіляри підслизової основи у більшості полів зору розширені і їх відносна площа (7,92 % ± 1,16 %) до цього терміну була більшою ($P < 0,05$), ніж у контролі (4,91 % ± 0,91 %), на 61,3 % (див. таблицю). Помітніше та рівномірніше були розширені лімфатичні капіляри, їх питома вага (21,18 % ± 1,95 %) була більшою ($P < 0,05$), ніж у контролі (7,23 % ± 1,14 %), у 2,9 раза. Найбільших змін у цьому терміні зазнали інтерстиційні простори, їх питома вага (18,30 % ± 2,12 %) була більшою ($P < 0,05$) порівняно з показником попередньої групи (12,53 % ± 1,04 %) на 46,4 % та з показником контрольної групи (5,61 % ± 0 ,95 %) у 3,2 раза. Таку різницю можна пояснити зменшенням відносного об'єму клітин та міжклітинної речовини у цьому терміні за рахунок неможливості відновлення клітинного пулу внаслідок дії цитостатичного засобу.

Зміни структури м'язового шару тонкої кишки щурів через 3 доби після введення циклофосфаміду були показові, але мали вогнищевий характер. Судини кровоносного та лімфатичного компонентів вогнищево мали більшу площу поперечного перерізу, прояв був інтенсивніший, ніж у попередній групі. Інтерстиційні простори розширені рівномірніше, але менш інтенсивно.

Висновки. 1. В умовах одноразового введення циклофосфаміду в дозі 1270 мг/кг у власній пластинці слизової оболонки, підслизовій основі, м'язовому шарі тонкої кишки щурів відмічено розширені лімфатичні судини та інтерстиційні простори, мозаїчні площі кровоносних судин, перерозподіл крові у венулярну ланку. На 3-тю добу структура і обчислені показники власної пластинки слизової оболонки та підслизового шару не відновлювалися. 2. Встановлені морфологічні прояви перебудови мікроциркуляторного русла у власній пластинці слизової оболонки, підслизовій основі, м'язовому шарі тонкої кишки щурів в умовах дії циклофосфаміду зумовлюють функціональну недостатність тонкої кишки. 3. При виборі напряму пошуку модифікаторів токсичності циклофосфаміду необхідно враховувати особливості перебудови мікроциркуляторного русла та призначати препарати, здатні нормалізувати його структуру й покращувати мікроциркуляцію, що дозволить впливати на причину клінічних проявів.

Список літератури

1. *Королёва И. А., Вельшер Л. З., Казюлин А. Н.* и др. Кардиотоксичность при проведении химиотерапии онкологических заболеваний // Медицина критических состояний. – 2010. – № 1. – С. 62–70.
2. *Рыболовлев Ю. Р., Рыболовлев Р. С.* Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности // Журн. АМН СССР. – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.
3. *Ayhanci A., Gunes S., Sahinturk V.* et al. Seleno Lmethionine acts on cyclophosphamide-induced kidney toxicity // Biological Trace Element Research. – 2010. – Vol. 136. – P. 171–179.
4. *Bryniarski K.* The Influence of Cyclophosphamide on Immune Function of Murine Macrophages // Pharmacology. – 2012. – 14 March. – P. 143–160.
5. *Kim S., Lee C., Lim H.* et al. Protective effects of pine bark extract on developmental toxicityof cyclophosphamide in rats // Food Chemical Toxicology. – 2012. – Vol. 50. – P. 109–115.
6. *Monach P. A., Arnold L. M., Merkel P. A.* Incidence and prevention of bladder toxicity from cyclophosphamide in the treatment of rheumatic diseases: a data-driven review // Arthritis and Rheumatism. – 2010. – Vol. 61, Is. 1. – P. 9–21.

МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ РЕАКЦИИ МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА СТЕНКИ ТОНКОЙ КИШКИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЕЙСТВИЯ ЦИКЛОФОСФАМИДА В РАННИЕ СРОКИ

А. О. Бондарчук, А. А. Гаврилюк (Винница)

Исследование посвящено установлению морфологических проявлений реакции компонентов микроциркуляторного русла оболочек тонкой кишки на одноразовое введение циклофосфамида. Эксперимент проводили на 36 белых беспородных крысах. Доказано, что в условиях действия циклофосфамида до третьих суток структура микроциркуляторного русла не восстанавливается и значения удельного веса её компонентов достоверно отличаются от контрольных.

Ключевые слова: тонкая кишка, микроциркуляторное русло, циклофосфамид.

MORPHOLOGICAL MANIFESTATIONS OF THE REACTION OF THE MICROCIRCULATORY BED OF THE SMALL INTESTINE WALL OF RATS UNDER INFLUENCE OF CYCLOPHOSPHAMIDE ACTION IN THE EARLY PERIODS

A. O. Bondarchuk, A. A. Gavrilyuk (Vinnitsa, Ukraine)

National Piroqov Memorial Medical University

The study is devoted to the establishment of morphological manifestations of the reaction of components of the microcirculatory bed of the layers of the small intestine to a single infusion of cyclophosphamide. The experiment was carried out on 36 white mongrel rats. It has been proved that under the influence of cyclophosphamide up to the third day the microcirculatory bed structure is not restored and the specific gravity of its components is significantly differ from the control ones.

Key words: small intestine, microcirculatory bed, cyclophosphamide.