

19. Anthony J. Lembo *Contemporary diagnosis and management of irritable bowel syndrome* / Anthony J. Lembo, Douglas A. Drossman // *Gut*. - 2002. - Vol. 43. - P. 456-459.

20. Camilleri M. *Management of the irritable bowel syndrome* / M. Camilleri // *Gastroenterology*. - 2001. - Vol. 120 - P. 652-668.

21. George F. *Functional bowel disorders* / F. George // *Gastroenterology*. - 2006. - Vol. 130. - P. 1480-1491.

Резюме

Пересадин Н.А., Фролов В.М., Круглова О.В., Санжаревская И.В. *Оценка эффективности препарата растительного происхождения Файберлекса у больных с синдромом раздраженного кишечника и наличием обстипации.*

Проведена оценка эффективности препарата растительного происхождения Файберлекса у больных с синдромом раздраженного кишечника (СРК) и наличием обстипации. Установлено, что применение Файберлекса позитивно влияет на клинические показатели у больных с наличием СРК, способствует скорейшему выздоровлению, а в патогенетическом плане - нормализации показателей макрофагальной фагоцитирующей системы.

Ключевые слова: синдром раздраженного кишечника, обстипация, клиника, макрофагальная фагоцитирующая система, Файберлекс, лечение.

Резюме

Пересадин М.О., Фролов В.М., Круглова О.В., Санжаревська І.В. *Оцінка ефективності препарату рослинного походження Файберлексу у хворих з синдромом подразненого кишечника та наявністю обстипації.*

Проведена оцінка ефективності препарату рослинного походження Файберлексу в хворих з синдромом подразненого кишечника (СРК) та наявністю обстипації. Встановлено, що застосування Файберлексу позитивно впливає на клінічні показники у хворих з СРК, сприяє більш швидкому одужанню, а у патогенетичному плані - нормалізації показників макрофагальної фагоцитуючої системи.

Ключові слова: синдром подразненого кишечника, обстипація, клініка, макрофагальна фагоцитуюча система, Файберлекс, лікування.

Summary

Peresadin M.O., Frolov V.M., Kruglova O.V., Sanzharevska I.V. *Estimation effectivity preparation of herbal genesis Fiberlex at the patients with irritable bowel syndrome and constipation.*

The estimation of effectivity preparation of herbal genesis Fiberlex at the patients with irritable bowel syndrome (IBS) and constipation was investigated. It was set that using Fiberlex positive influenced at clinic picture of the patients with IBS, provided rapidly reconvalescention, and in pathogenetic plan - normalization macrophagal phagocytic system indexes.

Key words: irritable bowel syndrome, constipation, clinic, macrophagal phagocytic system, Fiberlex, treatment.

Рецензенти: д.мед.н., проф. Т.П.Гарник
д.фарм.н., проф. О.П.Гудзенко

УДК 547.854.4+547.96+547.342

ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ БЕТАМЕТАЗОНУ, МІТОМІЦИНУ С ТА 5-ФТОРУРАЦИЛУ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ КЛІТИН IN VITRO

**А.М.Сергієнко, Л.М.Литвинчук, Г.Й.Лавренчук,
О.В.Власко**

*Київська міська клінічна офтальмологічна лікарня
"Центр Мікрохірургії Ока" (Київ)
ДУ "Науковий центр радіаційної медицини АМН України"
(Київ)*

Вступ

Проліферативна вітреоретинопатія (ПВР) є основною причиною ускладнень оперативних втручань на задньому відрізку ока. Основним підходом лікування ПВР є хірургічний. Застосування медикаментозної підтримки для пригнічення активності ПВР здатне покращити результати оперативних втручань. В експерименті неодноразово досліджувався вплив різноманітних фармакологічних препаратів на розвиток моделі ПВР. Для створення моделі проліферативних процесів часто використовують культивовані тканинні фібробласти (1). Доведено, що кортикостероїди та цитостатики в умовах експерименту пригнічують мітотичну активність фібробластів (10,12). Проте механізми дії цих препаратів при різних їх концентраціях досконало не з'ясовані.

Метою дослідження було встановити особливості фармакологічної дії бетаметазону, мітоміцину С та 5-фторурацилу у різних концентраціях на культуру фібробластоподібних клітин in vitro.

Матеріали та методи дослідження

Експериментальні дослідження проводилися на асинхронній культурі перещеплюваних клітин (лінія L₉₂₉). Клітини L₉₂₉ були обрані для дослідження, як модель проліферативного процесу in vitro, через свої фібробластоподібні властивості (здатність до перманентного мітозу). Відсутність судинного компоненту

в культурі клітин та швидкий прогрес мітозу становили особливості даної тест-системи. Культивування клітин здійснювали загальноприйнятими методами роботи з культуральними штамами (8) у поживному середовищі такого складу: середовище RPMI-1640 (90%), ембріональна теляча сироватка (10%) та гентаміцин із розрахунку 10 мкг/мл.

Для дослідження антипроліферативної дії на культурі клітин використовувалися наступні препарати:

- бетаметазон - синтетичний кортикостероїд (гормон кори наднирників). Проявляє виражену протизапальну та цитостатичну дію;

- мітоміцин С - антибіотик з протипухлинною активністю. Пригнічує синтез ДНК, а при високих концентраціях пригнічує синтез білку та РНК. Найбільш активний в пізніх G1- та S-фазах мітозу;

- 5-фторурацил - протипухлинний препарат з групи антиметаболітів. Блокує синтез ДНК, ініціює утворення структур недосконалої РНК, пригнічує поділ ракових клітин.

Досліджувані препарати додавали до культури через 24 год після посадки клітин в концентраціях: бетаметазон - 2,5, 5, 10, 25, 50 мкл/мл, мітоміцин С та 5-фторурацил - 2,5, 5, 10, 25, 50 мкг/мл, відповідно. Клітинні ефекти оцінювали у різні терміни культивування (з 1 по 5 добу) за показниками життєздатності: проліферативна активність - виживання, мітотична активність - мітотичний індекс, та гетерогенність популяції клітин - індекс полікаріоцитів. Кінетику показників життєдіяльності в інтактних та дослідних культурах клітин визначали одночасно на протоковому цитофлуориметрі FACStar Plus фірми "Becton Dickinson" (США). Статистичну обробку результатів проводили з використанням t-критерію Стьюдента та за допомогою пакетів прикладних програм Microsoft Excel та Biostat.

Отримані результати та їх обговорення

В інтактному контролі клітини лінії L₉₂₉ утворюють щільний моношар з типових фібробластоподібних клітин веретеноподібної чи полігональної форми з двома відростками. В цитоплазмі більшості клітин присутні світлі вакуолі та маленькі гра-

нули. Ядра клітин відносно великі, зустрічаються окремі двондерні, а також гіперхромні клітини. У полі зору спостерігаються 2 - 5 клітин на стадії поділу (рис.1). Дослідження кінетики росту інтактних клітин показало, що для них характерне збільшення проліферативної активності впродовж 1 - 5 доби культивування (фаза логарифмічного росту) з поступовим виходом на плато на 5 - 6-ту добу (фаза стаціонарного росту) (рис.2). У ці терміни щільність моношару клітин була досить високою. Максимум мітотичної активності спостерігався на 3-тю добу культивування. У подальшому мітотичний індекс зменшувався за рахунок контактного інгібування мітозу та конфузентного стану культури клітин. Індекс гігантських полікаріоцитів в інтактному контролі становив 8 - 17 %.

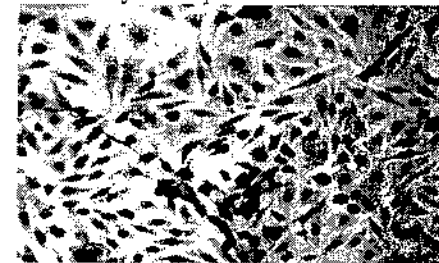


Рис.1. Культура трансформованих фібробластів лінії L₉₂₉ на 4-ту добу культивування в інтактному контролі. Забарвлення гематоксиліном-еозином, збільшення x 1000.

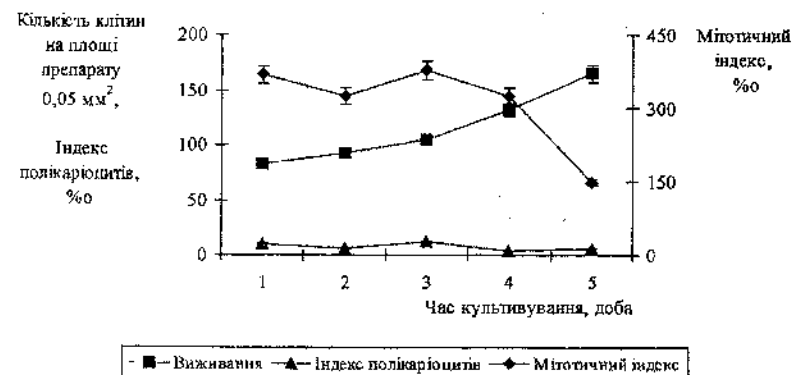


Рис.2. Кінетика показників життєдіяльності у культурі клітин лінії L₉₂₉ в інтактному контролі.

При інкубації культури клітин з бетаметазоном в концентрації 2,5 мкг/мл клітини полігональної форми утворюють рідкий моношар (рис. 3, А). Цитоплазма у більшості клітин вакуолізована, ядра округлі з чітко визначеними ядерцями. Декілька мітозів у полі зору. Присутні ознаки цитотоксичної дії препарату. Спостерігається збільшення кількості гігантських клітин.

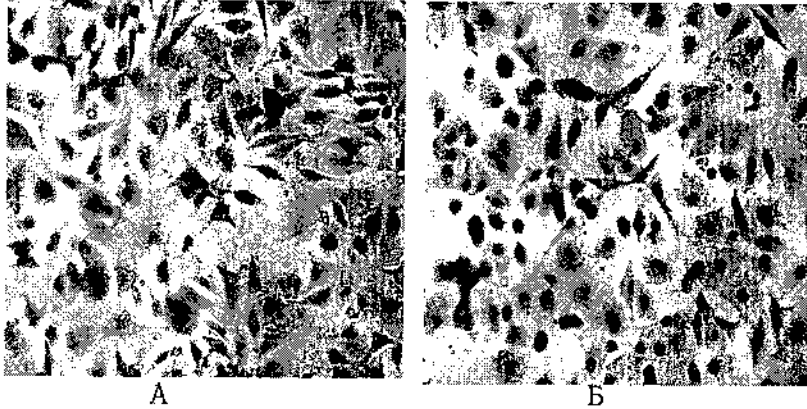


Рис. 3. Вплив бетаметазону в дозі 2,5 мкг/мл (А) та 25 мкг/мл (Б) на культуру клітин лінії L_{929} на 4-ту добу культивування. Забарвлення гематоксиліном-еозином, збільшення $\times 1000$.

Проте, починаючи з концентрації 5 мкг/мл кінетика показників життєдіяльності поступово почала відрізнятися від контрольного зразка. Інкубація клітин з бетаметазоном в діапазоні концентрацій 5 - 50 мкг/мл призводить до істотних змін проліферативної та мітотичної активності клітин в культурі: щільність клітинної популяції зменшується вдвічі у порівнянні з інтактним контролем, істотно зменшується мітотичний індекс та зростає кількість полікаріоцитів (рис. 4). Збільшення концентрації бетаметазону в 10 разів призводить до зміни морфологічної структури популяції клітин: переважають полігональні клітини з гіперхромним овальним ядром. Ядерця відмічаються у незначній кількості клітин. Цитоплазма дифузна, проте деякі клітини мають вакуолі. Слід відмітити, що при інкубації клітин з бетаметазоном в зазначеному діапазоні концентрацій спостерігаються ділянки моношару з ознаками некрозу (рис. 3, Б).

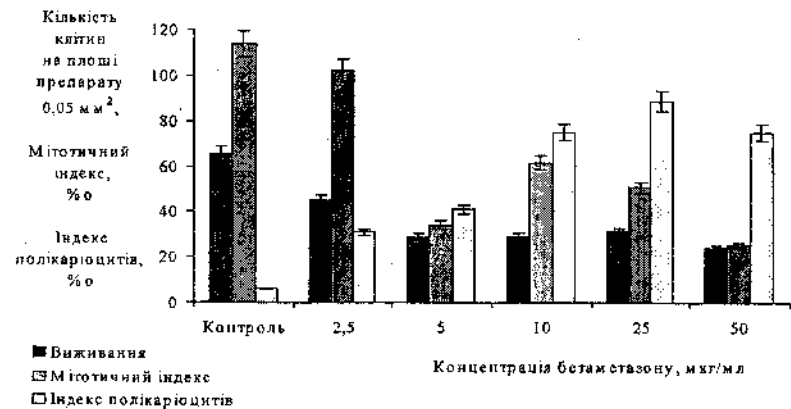


Рис. 4. Життєздатність культури трансформованих фібробластів лінії L_{929} при інкубації з бетаметазоном в різних концентраціях на 4-ту добу культивування.

Інкубація клітин з мітоміцином С в концентрації 2,5 мкг/мл призводить до різкого зниження показників життєздатності клітин (проліферативної і мітотичної активності) та зростання гетерогенності культури клітин за рахунок підвищення індексу полікаріоцитів у порівнянні з інтактним контролем. При збільшенні дози препарату в 10 разів у культурі клітин спостерігались деструктивно-дегенеративні зміни: інтенсивно забарвлені дрібні клітини округлої форми (рис. 5, Б).

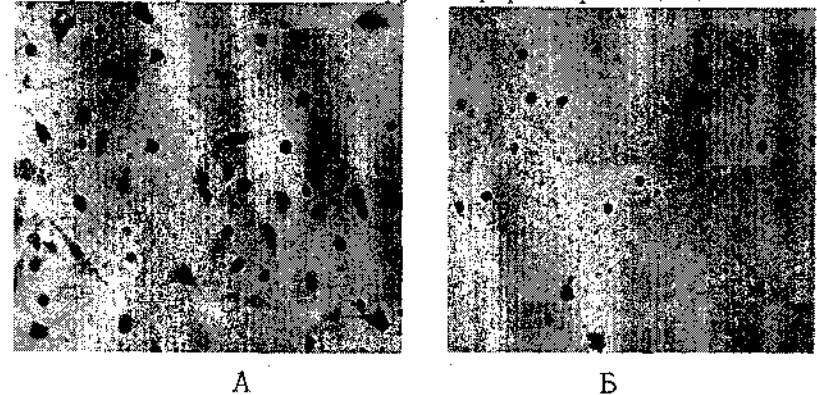


Рис. 5. Культура трансформованих фібробластів лінії L_{929} при інкубації з мітоміцином С в концентраціях 2,5 (А) мкг/мл та 25 мкг/мл (Б) на 4-ту добу культивування. Забарвлення гематоксиліном-еозином, збільшення $\times 1000$.

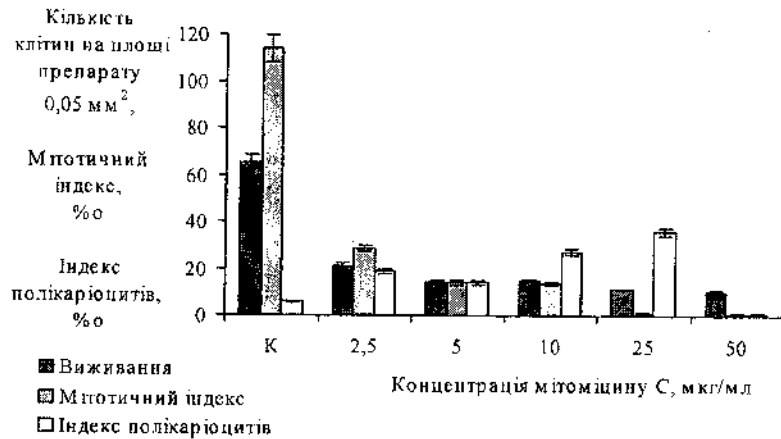


Рис. 6. Життєздатність культури трансформованих фібробластів лінії L_{929} при інкубації з мітоміцином С в різних концентраціях на 4-ту добу культивування.

Інкубація клітин з 5-фторурацилом призводила до значного цитотоксичного ефекту: дія цього препарату в концентрації 2,5 мкг/мл значно пригнічувала виживання та проліферативну активність клітин (рис. 7, А). Водночас змінювалась форма клітин, утворювалась значна кількість полікаріоцитів. Збільшення дози 5-фторурацилу до 25 мкг/мл (рис. 7, Б) призвело до деструктивно-дегенеративних змін клітинного моношару.

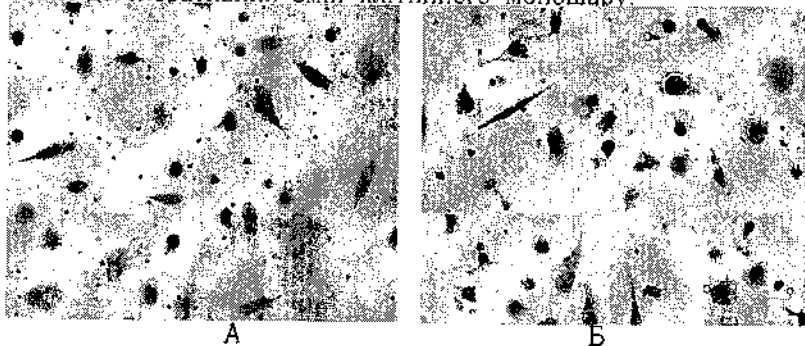


Рис. 7. Культура трансформованих фібробластів лінії L_{929} при інкубації з 5-фторурацилом в концентраціях 2,5 мкг/мл (А) та 25 мкг/мл (Б) на 4-ту добу культивування. Забарвлення гематоксилином-еозином, збільшення $\times 1000$.

Цитоплазма більшості клітин вакуолізована, ядра - різних розмірів, інколи неправильної форми. Відзначалася мала кількість мітотичних клітин у порівнянні з контролем, тобто, спостерігалось виражене інгібування проліферативної та мітотичної активності клітин в культурі (рис. 8).

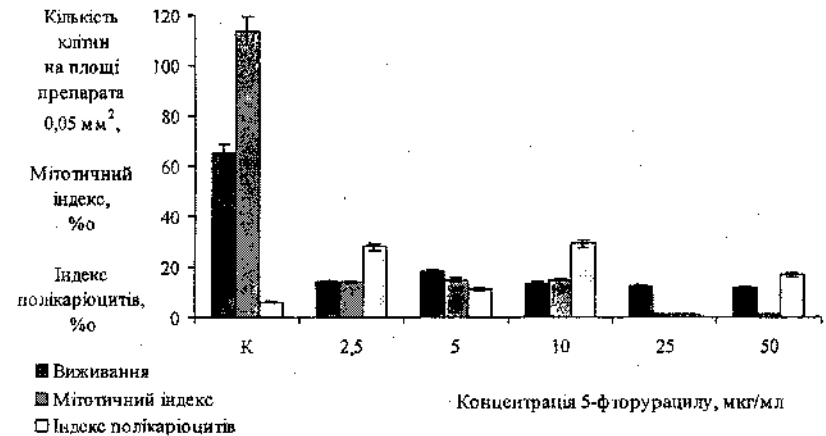


Рис. 8. Життєздатність культури трансформованих фібробластів лінії L_{929} при інкубації з 5-фторурацилом в різних концентраціях на 4-ту добу культивування.

Висновки

Результати експериментальних досліджень із застосуванням тест-системи культури клітин лінії L_{929} показали, що при додаванні незначних доз бетаметазону, мітоміцину С та 5-фторурацилу (2,5-25 мкг/мл) в культурі клітин відзначалися значне інгібування проліферативної та мітотичної активності, та збільшення індексу полікаріоцитів, що в свою чергу є ознакою репродуктивної загибелі клітин. Антипроліферативна дія бетаметазону виявилася менш активною у порівнянні з мітоміцином С та 5-фторурацилом.

На основі отриманих даних можна стверджувати, що досліджувані препарати у вищезгаданих концентраціях виражено пригнічують проліферацію, проявляють цитотоксичну дію та ініціюють некроз фібробластоподібних клітин культури L_{929} . Виявлені властивості препаратів на культурі клітин, як моделі проліферативного процесу *in vitro*, можуть свідчити про мож-

ливу їхню здатність контролювати розвиток проліферації при захворюваннях заднього відрізка ока. Отримані дані потребують подальшого дослідження.

Література

1. Machemer R. Proliferative vitreoretinopathy (PVR): a personal account of its pathogenesis and treatment - proa or lecture / R.Machemer // *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. - 1988. - Vol. 29, № 12.
2. Charteries D. G. Proliferative vitreoretinopathy: pathobiology, surgical management and adjunctive treatment / D. G. Charteries // *Br. J. Ophthalmol.* - 1995. - Vol. 79. - P. 953-960.
3. Antiproliferative and cytotoxic properties of bevacizumab on different ocular cells / M. S. Spitzer, B. Wallenfels-Thilo, A. Sierra [e.a.] // *Br. J. Ophthalmol.* 2006. - Vol. 90. - P. 1316-1321.
4. Comparative antiproliferative and cytotoxic profile of bevacizumab (Avastin), pegaptanib (Macugen) and ranibizumab (Lucentis) on different ocular cells / M. S. Spitzer, E. Yoeruek, A. Sierra [e.a.] // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2007. - Vol. 245. - P. 1837-1842.
5. L-929 (NCTC-clone 929, Clone of strain L) (Connective tissue, mouse), <http://www.viomed.com/services/product/1929.htm>.
6. Evaluation of Cytotoxic Effects of Bevacizumab on Human Corneal Cells / Shalam Kakarla, Agarwal Swati, Brar Vikram [e.a.] // *Cornea: Basic Investigation*. - 2009 - Vol. 28, Issue 3. - P. 328-333.
7. Comparative effects of bevacizumab, ranibizumab and pegaptanib at intravitreal dose range on endothelial cells / A. Carneiro, M. Falcao, A. Pirrao [e.a.] // *Elsevier Ltd.* - 2008.
8. Животная клетка в культуре (Методы и применение в биотехнологии) / под общ. ред. проф. Дьяконова Л.П. - М.: Спутник+, 2009. - 656 с.

9. Antiproliferative property of hexadecyloxypropyl 9-[2-(phosphonmethoxy) ethyl] guanine (HDP-PMEG) for unwanted ocular proliferation / J. Hou, Y. Li, Zh. Zhou [e.a.] // *Molecular Vision*. - 2011. - Vol.17. - P. 627-637.

10. Hyeong Gon Yu Antiproliferative effect of mitomycin c on experimental proliferative vitreoretinopathy in rabbits / Hyeong Gon Yu, Hum Chung // *Korean J Ophthalmol.* - 1997. - Vol 105. - P.1198.

11. Implants as drug delivery devices for the treatment of eye diseases / G. R. da Silva, S. Ligorio Fialho, Rubens Camargo Siqueira [e.a.] // *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. - 2010. - Vol. 46, № 3.

12. Biodegradable scleral implant for controlled intraocular delivery of betamethasone phosphate / N. Kunou, Y. Ogura, Y. Honda [e.a.] // *J. Biomed. Mater. Res.* - 2000. - Vol. 15, № 51 (4). - P. 635-641.

13. Wen-Chuan Wu. A Comparative study of effects of antiproliferative drugs on human retinal pigment epithelial cells in vitro / Wen-Chuan Wu, Ying-Hsien Kao, Dan-Ning Hu // *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*. - 2002. - Vol. 18, № 3. - P. 251-264.

Резюме

Сергієнко А.М., Литвинчук Л.М., Лавренчук Г.Й., Власко О.В. Фармакологічна дія бетаметазону, мітоміцину С та 5-фторурацилу на проліферативну активність клітин *in vitro*.

Було проведено дослідження антипроліферативної дії бетаметазону, мітоміцину С та 5-фторурацилу на культуру фібробластоподібних клітин L929 *in vitro*. Фібробластоподібні клітини були вибрані, як модель проліферативних процесів *in vitro*, через здібність до постійного мітозу. Препарати додавалися до культури клітин у вказаних концентраціях: бетаметазон - 2,5, 5, 25, 50 мкл/мл, мітоміцин С та 5-фторурацил - 2,5, 5, 25, 50 мкг/мл. Клітинні ефекти оцінювалися за змінами індексів життєдіяльності кліток: виживання, мітотичний індекс і індекс полікаріоцитів. Для контролю використовувалися інтактні клітини. Бетаметазон, мітоміцин С і 5-фторурацил ініціювали посилення гетерогенності клітин, інгібували мітотичну і проліферативну активність порівняно з контролем. Були зафіксовані ознаки цитотоксичної дії препаратів. Мітоміцин С і 5-фторурацил проявляли більш виражену антипроліферативну дію ніж бетаметазон. Виявлені властивості препаратів свідчать про можливий контроль ними проліферативних процесів *in vitro*.

Ключові слова: проліферативні процеси, фібробластоподібні клітини, антипроліферативна дія, мітотична активність, цитотоксична дія.

Резюме

Сергиенко А.Н., Литвинчук Л.М., Лавренчук Г.И., Власко Е.В. Фармакологическое воздействие бетаметазона, митомицина С и 5-фторурацила на пролиферативную активность клеток *in vitro*.

Было проведено исследование антипролиферативного воздействия бетаметазона, митомицина С и 5-фторурацила на культуру фибробластоподобных клеток L₉₂₉ *in vitro*. Фибробластоподобные клетки были избраны, как модель пролиферативных процессов *in vitro*, из-за способности к постоянному митозу. Препараты добавлялись к культуре клеток в указанных концентрациях: бетаметазон - 2,5, 5, 25, 50 мкл/мл, митомицин С и 5-фторурацил - 2,5, 5, 25, 50 мкг/мл. Клеточные эффекты оценивались за изменениями индексов жизнедеятельности клеток: выживание, митотический индекс и индекс поликариоцитов. Для контроля использовались интактные клетки. Бетаметазон, митомицин С и 5-фторурацил инициировали усиление гетерогенности клеток, ингибировали митотическую и пролиферативную активность в сравнении с контролем. Были зафиксированы признаки цитотоксического воздействия препаратов. Митомицин С и 5-фторурацил проявляли более выраженное антипролиферативное воздействие чем бетаметазон. Выявленные свойства препаратов свидетельствуют о возможном контроле ими пролиферативных процессов *in vitro*.

Ключевые слова: пролиферативные процессы, фибробластоподобные клетки, антипролиферативное воздействие, митотическая активность, цитотоксическое воздействие.

Summary

Sergienko A., Lytvynchuk L., Lavrinchuk G., Vlasko O. Pharmacological effects of betamethasone, mitomycin C and 5-fluorouracil on cellular proliferative activity *in vitro*.

Antiproliferative effects of betamethasone, mitomycin C and 5-fluorouracil on fibroblast-like cell strain L₉₂₉ were studied *in vitro*. Fibroblast-like cell strain was chosen as a model of proliferative processes *in vitro* due to its continuous mitotic abilities. Drugs in given dosage (betamethasone - 2.5, 5, 25, 50 mcg/ml, mitomycin C and 5-fluorouracil - 2.5, 5, 25, 50 mcg/ml) were added to the cell strain gradually. Cellular effects were evaluated according to cell vital activity indices changes: survival, mitotic index and polycaryocyte index. At the same time intact cell strain was evaluated as well. Betamethasone, mitomycin C and 5-fluorouracil induce increase of cellular heterogeneity, inhibit proliferative and mitotic activity, comparing to intact cells. The signs of cytotoxic effects were noticed. Mitomycin C and 5-fluorouracil show more pronounced antiproliferative action comparing to betamethasone. The revealed effects of the drugs are considered to control proliferative processes *in vitro*.

Key words: proliferative process, fibroblast-like cells, antiproliferative action, mitotic activity, cytotoxic effects.

Рецензент: д.мед.н., проф. В.Д. Лук'яничук

КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ СИРОПУ КОРЕНЯ СОЛОДКИ У МЕДИЧНІЙ РЕАБІЛІТАЦІЇ ХВОРИХ НА БРОНХІАЛЬНУ АСТМУ В ПОДНАННІ З ХРОНІЧНИМ НЕКАЛЬКУЛЬОЗНИМ ХОЛЕЦИСТИТОМ

О.Г. Чуменко, Т.А. Победьонна

Луганський державний медичний університет

Луганська обласна клінічна лікарня

Вступ

Бронхіальна астма (БА) є однією із найбільш розповсюджених патологій органів дихання [7], яка досить часто сполучається із хронічним некалькульозним холециститом (ХНХ). Проведення реабілітаційного лікування хворих на БА у поданні з ХНХ є необхідним компонентом, що дозволяє зменшити витрати, пов'язані із непрацездатністю і покращити якість життя хворих [4]. Одне з провідних місць в реабілітації хворих на БА займає курортне лікування. Перевага його полягає в тому, що природні фактори є адекватними подразниками для організму та їм не властиві негативні побічні ефекти на відміну від медикаментів. Як методи природної корекції стану внутрішнього середовища організму хворих на БА використовуються кліматолікування та кліматопротекція, які спрямовані на підвищення неспецифічної резистентності [4].

Широко застосовується пелоїдотерапія, яка має протизапальну дію і сприяє нормалізації імунного статусу, активізує гіпофізарно-адреналову систему хворих. Одним з ефективних профілактичних методів лікування БА, який може проводитися в період ремісії захворювання, є спелеотерапія та її штучний аналог - галоаерозольотерапія [4]. Високодисперсний аерозоль кам'яної солі поліпшує реологічні властивості бронхіального секрету, надає мукорегулюючу дію, сприяє функціонуванню війчатого епітелію і поліпшує дренажну функцію дихальних шляхів [1].