

Зміни клітинного складу крипт дванадцятипалої кишки щурів під впливом хронічної дії епіхлоргідрину

С.М. Смірнов, М.А. Мірзєбасов, А.С. Смірнов, Т.Р. Керімов, А.О. Турзаєв

ДЗ «Луганський державний медичний університет», Рубіжне; e-mail: snsm60@ukr.net

Для вивчення зміни клітинного складу крипт слизової оболонки дванадцятипалої кишки внаслідок хронічної дії епіхлоргідрину та ефективності використання екстракту ехінацеї пурпурової та тіотриазоліну для їх корекції на 15, 30 та 60-ту добу виводили з експерименту щурів, яких піддавали тривалій дії епіхлоргідрину, екстракту ехінацеї пурпурової та тіотриазоліну. За стандартною гістологічною методикою обробляли зрізи дванадцятипалої кишки, фарбували гематоксилін-еозином, кислим фуксином і пікриновою кислотою. Клітинний склад крипт слизової оболонки дванадцятипалої кишки вивчали за допомогою мікроскопа серії MC 100 фірми «Micros» (Австрія). Хронічний вплив епіхлоргідрину на дванадцятипалу кишку призводить до статистично достовірних змін клітинного складу крипт, що зберігався після припинення дії хімічної речовини. На 15-ту добу в одній крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки зменшилася загальна кількість клітин, кількість стовпчастих епітеліоцитів, аргірофільних ендокриноцитів та клітин Панета порівняно з контролем. Застосування як екстракту ехінацеї пурпурової, так і тіотриазоліну на фоні хронічної дії епіхлоргідрину запобігало розвитку під впливом останнього негативних змін клітинного складу крипт слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

Ключові слова: епіхлоргідрин; слизова оболонка дванадцятипалої кишки; крипти; тіотриазолін; екстракт ехінацеї пурпурової.

ВСТУП

У світі постійно досліджується вплив хімічних речовин на стан здоров'я людини, у зв'язку з тим, що вони можуть призводити до патологічних змін морфофункціонального стану органів дихання, нирок, шкіри [1–4]. Хімічні речовини, що потрапляють в організм людини інгаляційно, відіграють важливу роль у розвитку алергічного запалення в органах дихання [1, 5]. Нині шлунково-кишковий тракт є об'єктом дослідження як мішень дії забруднювачів повітря [6–8].

Епіхлоргідрин потрапляє в організм людини інгаляційним шляхом на виробництві та у побуті, оскільки його використовують для виготовлення фарб, гліцерину, виробів побутової хімії [9]. Окрім негативного впливу на генетичний апарат клітин, стан шкіри, дихальних шляхів та нирок, він здатний викликати морфофункціональні

© С.М. Смірнов, М.А. Мірзєбасов, А.С. Смірнов, Т.Р. Керімов, А.О. Турзаєв

зміни слизової оболонки шлунка [10–12]. Наслідки хронічного впливу епіхлоргідрину на слизову оболонку дванадцятипалої кишки нині не досліджені і немає даних щодо методів корекції морфофункціональних змін внаслідок тривалої дії цієї хімічної речовини.

Мета нашої роботи – вивчити зміни клітинного складу крипт слизової оболонки дванадцятипалої кишки внаслідок хронічної дії епіхлоргідрину, а також оцінити ефективність використання екстракту ехінацеї пурпурової та тіотриазоліну для їх корекції.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили протягом 2 міс на 108 білих щурах самцях репродуктивного віку, яких поділили на 6 груп. Тварини 1-ї групи були контролем. Щурів 2-ї групи піддавали впливу інгаляцій епіхлоргідрину в дозі 10 ГДК (гранично-допустимих концентрацій),

яка діяла на щурів 5 днів на тиждень з 9:00 до 14:00 натщесерце. Щурам 3-ї групи вводили екстракт ехінацеї пурпурової у дозі 200 мг/кг за допомогою шлункового зонду 5 днів на тиждень о 9:00. Щури 4-ї групи отримували 2,5%-й розчин тіотриазоліну внутрішньоочеревинно в дозі 117,4 мг/кг 5 днів на тиждень о 9:00. Щури 5-ї групи отримували епіхлоргідрин та екстракту ехінацеї пурпурової, а 6-ї – епіхлоргідрин та тіотриазолін за методиками, описаними вище.

На 15, 30 та 60-ту добу з експерименту вилучали по 6 щурів кожної групи. Виведення щурів з експерименту та інші маніпуляції здійснювали за вимогами, які встановлені законом України № 3447-IV від 21.02.2006 р. «Про захист тварин від жорстокого поводження», викладені у матеріалах Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964–2000), «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для експериментального та других наукових цілей» (Страсбург, 18.03.86), у методичних рекомендаціях Комітету з біоетики при Президії АМН України, Національного комітету з питань біоетики при Президії НАН України, Державного фармакологічного центру МОЗ України «Біоетична експертиза доклінічних та інших наукових досліджень, які виконуються на тваринах». Проксимальні відділи дванадцятипалої кишки були зафіксовані 10%-м розчином нейтрального формаліну та оброблені за допомогою стандартної гістологічної методики. Зрізи товщиною 4 мкм виготовили за допомогою санного мікротома та використовували методики фарбування гематоксилін-еозином, кислим фуксином і пікриновою кислотою. Клітинний склад крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки вивчали за допомогою мікроскопа серії MC 100 фірми «Micros» (Австрія). Статистичну обробку результатів проводили програмою Statistica-10. Для визначення достовірності відмінностей використовували

критерій U Манна-Уїтні, відмінності вважали вірогідними при $P < 0,05$. Досліджувані показники представлено у вигляді $M \pm SD$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Внаслідок тривалої дії епіхлоргідрину відбулися статистично достовірні зміни клітинного складу крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки. У групі щурів, що отримували тривалі інгаляції епіхлоргідрину, в одній крипті слизової оболонки дванадцятипалої кишки на 15-ту добу зменшилася загальна кількість клітин на 6,0% ($P < 0,05$), кількість стовпчастих епітеліоцитів – на 7,9% ($P < 0,05$), кількість аргірофільних ендокриноцитів – на 5,4% ($P < 0,05$), кількість клітин Панета – на 5,4% ($P < 0,05$) порівняно з контролем. На 30-ту та 60-ту добу не виявлено статистично достовірних змін загальної кількості клітин, стовпчастих епітеліоцитів, аргірофільних ендокриноцитів та клітин Панета в одній крипті слизової оболонки дванадцятипалої кишки щодо відповідних показників щурів групи контролю.

Кількість келихоподібних екзокриноцитів та недиференційованих епітеліоцитів однієї крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки під дією епіхлоргідрину статистично достовірно не змінювались на 15, 30 та 60-ту добу порівняно з групою контролю (табл. 1).

Введення екстракту ехінацеї пурпурової (3-тя група), розчину тіотриазоліну (4-та група) та епіхлоргідрину разом з екстрактом ехінацеї (5-та група) та епіхлоргідрину і тіотриазоліну (6-та група) не призводило до вірогідних змін загальної кількості клітин в одній крипті слизової оболонки дванадцятипалої кишки, стовпчастих і недиференційованих епітеліоцитів, келихоподібних екзокриноцитів, аргірофільних ендокриноцитів та клітин Панета на 15, 30 та 60-ту добу порівняно з показниками групи щурів, що отримували тривалі інгаляції епіхлоргідрину, та з контролем (табл. 2; 3).

Таблиця 1. Клітинний склад епітелію крипт дванадцятипалої кишки щурів після завершення тривалої дії епіхлоргідрину (M ± SD, n = 6)

Кількість клітин	Схема досліджу	Доба спостереження		
		15-та	30-та	60-та
Загальна	контроль	99,85 ± 4,98	98,93 ± 4,27	99,30 ± 4,55
	епіхлоргідрин	93,85 ± 5,51*	98,33 ± 4,55	99,82 ± 3,59
Стовпчасті епітеліоцити	контроль	73,58 ± 3,49	73,32 ± 3,34	73,81 ± 3,59
	епіхлоргідрин	67,80 ± 2,98*	70,51 ± 2,31	72,55 ± 2,70
Келихоподібні екзокриноцити	контроль	12,04 ± 0,97	12,07 ± 0,76	11,83 ± 0,72
	епіхлоргідрин	11,48 ± 0,86	12,11 ± 0,74	11,84 ± 0,60
Аргірофільні ендокриноцити	контроль	2,41 ± 0,11	2,40 ± 0,11	2,39 ± 0,12
	епіхлоргідрин	2,28 ± 0,10*	2,42 ± 0,14	2,40 ± 0,13
Клітини Панета	контроль	4,67 ± 0,26	4,64 ± 0,22	4,66 ± 0,24
	епіхлоргідрин	4,42 ± 0,25*	4,65 ± 0,34	4,69 ± 0,17
Недиференційовані епітеліоцити	контроль	7,24 ± 0,35	7,20 ± 0,41	7,19 ± 0,40
	епіхлоргідрин	6,95 ± 0,35	7,21 ± 0,47	7,23 ± 0,27

Примітки: тут і в табл. 2 і 3 кількість клітин зазначена в одній крипти; *P < 0,05 порівняно з контролем.

Таблиця 2. Клітинний склад епітелію крипт дванадцятипалої кишки щурів після завершення тривалої дії епіхлоргідрину та екстракту ехінацеї пурпурової (M ± SD, n = 6)

Кількість клітин	Схема досліджу	Доба спостереження		
		15-та	30-та	60-та
Загальна	контроль	99,85 ± 4,98	98,93 ± 4,27	99,30 ± 4,55
	епіхлоргідрин	93,85 ± 5,51	98,33 ± 4,55	99,82 ± 3,59
	епіхлоргідрин і ехінацея пурпурова	97,26 ± 4,45	97,89 ± 3,92	99,38 ± 5,79
Стовпчасті епітеліоцити	контроль	73,58 ± 3,49	73,32 ± 3,34	73,81 ± 3,59
	епіхлоргідрин	67,80 ± 2,98	70,51 ± 2,31	72,55 ± 2,70
	епіхлоргідрин і ехінацея пурпурова	71,05 ± 3,31	73,41 ± 3,04	73,67 ± 3,25
Келихоподібні екзокриноцити	контроль	12,04 ± 0,97	12,07 ± 0,76	11,83 ± 0,72
	епіхлоргідрин	11,48 ± 0,86	12,11 ± 0,74	11,84 ± 0,60
	епіхлоргідрин і ехінацея пурпурова	11,62 ± 0,72	11,86 ± 0,83	11,71 ± 0,84
Аргірофільні ендокриноцити	Контроль	2,41 ± 0,11	2,40 ± 0,11	2,39 ± 0,12
	епіхлоргідрин	2,28 ± 0,10	2,42 ± 0,14	2,40 ± 0,13
	епіхлоргідрин і ехінацея пурпурова	2,33 ± 0,11	2,40 ± 0,12	2,42 ± 0,13
Клітини Панета	контроль	4,67 ± 0,26	4,64 ± 0,22	4,66 ± 0,24
	епіхлоргідрин	4,42 ± 0,25	4,65 ± 0,34	4,69 ± 0,17
	епіхлоргідрин і ехінацея пурпурова	4,57 ± 0,23	4,54 ± 0,18	4,66 ± 0,22
Недиференційовані епітеліоцити	контроль	7,24 ± 0,35	7,20 ± 0,41	7,19 ± 0,40
	епіхлоргідрин	6,95 ± 0,35	7,21 ± 0,47	7,23 ± 0,27
	епіхлоргідрин і ехінацея пурпурова	7,09 ± 0,31	7,14 ± 0,28	7,21 ± 0,23

Таблиця 3. Клітинний склад епітелію крипт дванадцятипалої кишки щурів після завершення тривалої дії епіхлоргідрину та тіотриазоліну ($M \pm SD$, $n = 6$)

Кількість клітин	Схема досліду	Доба спостереження		
		15-та	30-та	60-та
Загальна	контроль	99,85 ± 4,98	98,93 ± 4,27	99,30 ± 4,55
	епіхлоргідрин	93,85 ± 5,51	98,33 ± 4,55	99,82 ± 3,59
	епіхлоргідрин і тіотриазолін	98,00 ± 4,42	97,69 ± 2,97	99,35 ± 3,95
Стовпчасті епітеліоцити	контроль	73,58 ± 3,49	73,32 ± 3,34	73,81 ± 3,59
	епіхлоргідрин	67,80 ± 2,98	70,51 ± 2,31	72,55 ± 2,70
	епіхлоргідрин і тіотриазолін	72,12 ± 3,12	72,81 ± 3,04	73,41 ± 3,05
Келихоподібні екзокриноцити	контроль	12,04 ± 0,97	12,07 ± 0,76	11,83 ± 0,72
	епіхлоргідрин	11,48 ± 0,86	12,11 ± 0,74	11,84 ± 0,60
	епіхлоргідрин і тіотриазолін	11,92 ± 0,87	11,91 ± 0,69	11,84 ± 0,72
Аргірофільні ендокриноцити	контроль	2,41 ± 0,11	2,40 ± 0,11	2,39 ± 0,12
	епіхлоргідрин	2,28 ± 0,10 ^x	2,42 ± 0,14	2,40 ± 0,13
	епіхлоргідрин і тіотриазолін	2,34 ± 0,12	2,39 ± 0,10	2,40 ± 0,12
Клітини Панета	контроль	4,67 ± 0,26	4,64 ± 0,22	4,66 ± 0,24
	епіхлоргідрин	4,42 ± 0,25	4,65 ± 0,34	4,69 ± 0,17
	епіхлоргідрин і тіотриазолін	4,56 ± 0,21	4,59 ± 0,12	4,67 ± 0,19
Недиференційовані епітеліоцити	контроль	7,24 ± 0,35	7,20 ± 0,41	7,19 ± 0,40
	епіхлоргідрин	6,95 ± 0,35	7,21 ± 0,47	7,23 ± 0,27
	епіхлоргідрин і тіотриазолін	7,12 ± 0,30	7,12 ± 0,31	7,29 ± 0,28

Наведені результати характеризують зміни клітинного складу однієї крипти слизової оболонки дванадцятипалої кишки щурів внаслідок хронічної дії інгаляцій епіхлоргідрину. Були оцінені зміни загальної кількості клітин, кількості стовпчастих епітеліоцитів, келихоподібних екзокриноцитів, аргірофільних ендокриноцитів, клітин Панета, недиференційованих епітеліоцитів однієї крипти. Порівняні відповідні показники тварин, що отримували як епіхлоргідрин та екстракт ехінацеї, так і епіхлоргідрин та тіотриазолін, з показниками групи контролю та групою щурів, що піддавалися дії лише епіхлоргідрину.

Хронічний вплив інгаляцій епіхлоргідрину призводив до зменшення загальної кількості клітин в одній крипті слизової оболонки дванадцятипалої кишки, а також кількості

стовпчастих епітеліоцитів, аргірофільних ендокриноцитів та клітин Панета. Це свідчить про здатність епіхлоргідрину чинити негативний вплив організму та системи організму, що відповідає даним попередніх досліджень [9–12]. Механізм пошкоджуючої дії цієї хімічної речовини на клітинний склад крипт у щурів зумовлений порушенням процесів клітинного оновлення та диференціювання, що пов'язане зі змінами енергетичного обміну та стійкими змінами стану мітохондрій клітин [13, 14].

Одночасне введення ехінацеї пурпурової разом з інгаляціями епіхлоргідрину, як і одночасне застосування тіотриазоліну разом з епіхлоргідрином не призводило до статистично достовірних змін загальної кількості клітин, кількості стовпчастих

епітеліоцитів, келихоподібних екзокриноцитів, аргірофільних ендокриноцитів, клітин Панета та недиференційованих епітеліоцитів в одній крипті слизової оболонки дванадцятипалої кишки з 15-ї по 60-ту добу дослідження порівняно з контролем. Ці зміни є проявом збільшення під впливом екстракту ехінацеї пурпурової та тіотриазоліну функціональної активності дванадцятипалої кишки та її спроможності до компенсації наслідків негативної дії факторів навколишнього середовища. Також зменшується тривалість пригнічення мітотичної активності клітин епітелію слизової оболонки дванадцятипалої кишки [14].

ВИСНОВКИ

1. Хронічний вплив інгаляцій епіхлоргідрину призводить до статистично достовірних змін клітинного складу крипт слизової оболонки дванадцятипалої кишки, що зберігається після припинення дії хімічної речовини. Відбувається зменшення загальної кількості клітин в одній крипті, кількості стовпчастих епітеліоцитів, аргірофільних ендокриноцитів та клітин Панета.

2. Одночасне введення екстракту ехінацеї пурпурової разом з інгаляціями епіхлоргідрином не призводить до статистично достовірних змін загальної кількості клітин, кількості стовпчастих епітеліоцитів, келихоподібних екзокриноцитів, аргірофільних ендокриноцитів, клітин Панета та недиференційованих епітеліоцитів в одній крипті слизової оболонки дванадцятипалої кишки з 15-ї по 60-ту добу дослідження порівняно з контролем.

3. Одночасне застосування тіотриазоліну разом з епіхлоргідрином не спричинює статистично достовірні зміни загальної кількості клітин та кількості стовпчастих епітеліоцитів, келихоподібних екзокриноцитів, аргірофільних ендокриноцитів, клітин Панета та недиференційованих епітеліоцитів в одній крипті слизової оболонки

дванадцятипалої кишки з 15-ї по 60-ту добу дослідження порівняно з контролем.

4. Таким чином, застосування як екстракту ехінацеї, так і тіотриазоліну на фоні введення епіхлоргідрину запобігає розвитку під впливом останнього негативних змін клітинного складу крипт слизової оболонки дванадцятипалої кишки.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article

S.N. Smirnov, M.A. Mirzebasov, A.S. Smirnov,
T.R. Kerimov, A.A. Turzaev

CHANGES IN THE CELLULAR COMPOSITION OF THE CRYPTS OF THE DUODENUM IN RATS UNDER THE INFLUENCE OF THE CHRONIC ACTION OF EPICHLOROHYDRIN

State Institution "Luhansk State Medical University", Rubizhne, Ukraine; e-mail: snsm60@ukr.net

We studied the changes in the cellular composition of the duodenal's crypts induced by chronic action of Epichlorohydrin (ECH) and the efficiency of the treatment by Echinacea purpurea (EP) extract and thiotriazoline for possible correction of these changes. On the 15th, 30th and 60th days, rats subjected to ECH, EP and thiotriazoline were removed from the experiment. According to the standard histological technique, sections of duodenum were processed, stained with hematoxylin-eosin, acid fuchsine and picric acid. Chronic exposure to ECH on duodenum led to statistically significant changes in the cellular composition of the crypts, which persisted after the cessation of the action of the chemical. On the 15th day, there was a decrease in the total number of cells in one crypt of the duodenal mucous membrane (MM), the number of columnar epithelial cells, argyrophilic endocrinocytes and Paneth cells in one crypt of the duodenal MM compared with the corresponding indicators in rats of the control group. Administration of EP extract and thiotriazoline on the background of chronic action of ECH prevented the development of negative changes in crypt composition of the duodenal MM.

Key words: epichlorohydrin; duodenal mucosa; crypts; thiotriazoline; Echinacea purpurea extract.

REFERENCES

1. Burbank AJ, Sood, AK, Kesic, MJ, Peden, DB, Hernandez ML. Environmental determinants of allergy and asthma in early life. *J Allergy Clin Immunol.* 2017;140(1):1-12.
2. Pellicanò F, D'Orsi L, De Gaetano A, Panunzi S. A population approach for the estimation of methylmercury Toxicokinetics in red mullets. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2021; 428:115679.
3. Yan ZJ, Bartels M, Gollapudi B, Driver J, Himmelstein M, Gehen S, Juberg, D, van Wesenbeeck I, Terry C, Rasoulpour R. Weight of evidence analysis of the tumorigenic potential of 1,3-dichloropropene supports a threshold-based risk assessment. *Critic Rev Toxicol.* 2020; 50(10): 836-60.
4. Zhang S, Li Y, Yang C, Meng XZ, Zheng H, Gao Y, Cai M. Application of Hi-throat/Hi-volume SPE technique in analyzing occurrence, influencing factors and human health risk of organophosphate esters (OPEs) in drinking water of China. *J Environ Management.* 2021;291:112714.
5. Gilles S, Akdis C, Lauener R, Schmid-Grendelmeier P, Bieber T, Schäppi G, Traidl-Hoffmann C. The role of environmental factors in allergy: A critical reappraisal. *Exp Dermatol.* 2018;27(11):1193-200.
6. Pambianchi E, Pecorelli A, Valacchi G. Gastrointestinal tissue as a “new” target of pollution exposure. *IUBMB life.* 2021;10.
7. Tan Y, Zheng C. Effects of Alpinetin on intestinal barrier function, inflammation and oxidative stress in dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis mice. *Am J Med Sci.* 2018; 355(4), 377-86.
8. Wang X, Gao Y, Wang L, Yang D, Bu W, et al. Troxerutin improves dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice. *J Agricult Food Chem.* 2021; 69(9):2729-44.
9. Jeżewska A, Kondej D, Woźnica A. Determination of 1-chloro-2,3-epoxypropane in order to assess the working environment. *Med Pracy.* 2020; 71(6): 715-23. [Polish].
10. Le PM, Silvestri VL, Redstone SC, Dunn JB, Millard JT. Cross-linking by epichlorohydrin and diepoxybutane correlates with cytotoxicity and leads to apoptosis in human leukemia (HL-60) cells. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2018;352:19-27.
11. Shin IS, Park NH, Lee JC, Kim KH, Moon C, Kim SH, Shin DH, Park SC, Kim HY, Kim JC. One-generation reproductive toxicity study of epichlorohydrin in Sprague-Dawley rats. *Drug Chem Toxicol.* 2010;33(3):291-301.
12. Silvestri VL, Millard JT. Changes in apoptotic gene expression induced by the DNA cross-linkers epichlorohydrin and diepoxybutane in human cell lines. *Data Brief.* 2018;19:932-5.
13. Vysotsky IYu, Vysotskaya EI. Influence of metabolotropic medicines on some indices of energetic exchange in the conditions of acute toxic liver damage by flowing components epoxide tar ED-20. *Visnyk Sumy State Univ. Ser Medicine.* 2009;1:15-21.
14. Smirnov AS, Mirzebasov MA, Smirnov SM. The state of the duodenal villi in rats under epichlorohydrin and drugs influence. *Zaporozh Med J.* 2019;21;6(117). 820-7.

*Матеріал надійшов
до редакції 02.11.2021*