

**ПОРІВНЯННЯ ВПЛИВУ ЦИТОСТАТИЧНИХ СПОЛУК
ПОХІДНОГО МАЛЕІМІДУ 1-(4-СІ-БЕНЗИЛ)-3-СІ-4-
(CF₃-ФЕНІЛАМІНО)-1Н-ПІРОЛ-2,5-ДІОНУ
ТА 5-ФТОРУРАЦИЛУ НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ
СТАН НИРОК ЩУРІВ**

М.О. Данилов, Г.В. Островська, В.К. Рибальченко
Київський національний університет імені Тараса Шевченка

Вступ

На сьогодні є актуальним пошук речовин, які можуть виступати в якості протипухлинних препаратів таргетної (цільової) дії. Серед таких сполук перспективними є похідні малеїміду [5]. Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету імені Тараса Шевченка синтезовано похідне малеїміду 1-(4-СІ-бензил)-3-СІ-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (МІ-1) [2]. Просторова структура молекули МІ-1 дозволяє сполуці взаємодіяти з АТФ-зв'язуючим центром протеїнкінази [2], блокуючи, тим самим, їхню активність, зокрема МІ-1 інгібує тирозинкінази: EGFR, VEGF, рецептор інсуліноподібного фактору росту, що обумовлює його антипроліферативну дію, а також дає підстави використовувати МІ-1, як протипухлинний препарат, за умов низької токсичності, яка є значною проблемою в сучасній онкотерапії [1].

На сьогодні є дані, що демонструють низьку нефротоксичність МІ-1 при тривалому введенні (20 тижнів), проте при 30-добовій дії МІ-1 викликає пригнічення функціональної активності нирок щурів [3, 4]. Дослідження також показують, що похідне малеїміду не ушкоджує клітини печінки, та, навіть, має гепатопротекторну дію, а також МІ-1 знижує токсичні ефекти у печінці при дії ДМГ [6]. Отже, за даними, що є на цей час, похідне малеїміду не має значної токсичності, тому слід продовжувати дослідження у цьому напрямку.

Тому метою даної роботи стало дослідження впливу похідного малеїміду у дозі 2,7 мг/кг протягом 7 тижнів на морфофункціональний стан нирок щурів, та порівняння впливу МІ-1 з дією традиційного протипухлинного препарату 5-фторурацилу (2,4-діокси-5-фторпіримідин).

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 50 безпорідних статевозрілих щурах-самцях. Речовини вводили наступним чином: похідне малеїміду (МІ-1) per os щоденно в дозі 2,7 мг/кг маси тіла тварин розчиненим у 0,1 мл соняшникової олії; 5-ФУ вводили підшкірно в дозі 45 мг/кг маси тіла (0,32-0,34 мл залежно від маси тіла) щотижнево. Експериментальні тварини були рандомізовано розділені на 3 групи: I – МІ-1, 7 тижнів; II – 5-фторурацил (5-ФУ), 7 тижнів; III – МІ-1 + 5-ФУ одночасно, 7 тижнів. Тварини контрольної групи отримували відповідні розчинники за вищевказаними схемами. Щури експериментальних груп також отримували розчинники замість речовин, дія яких не досліджувалась у даних групах. Також була група інтактних тварин. Щурів виводили з експерименту через 1 добу після останнього введення досліджуваних речовин шляхом декапітації під ефірним наркозом. Для гістологічних досліджень брали фрагменти нирок, які фіксували у суміші Буена. Виготовляли парафінові зрізи та забарвлювали гематоксиліном, еозином та оранжем G за стандартною гістологічною методикою для подальшої оглядової мікроскопії. Морфологічний аналіз препаратів нирок проводили за допомогою світлової мікроскопії. Морфометричні параметри вимірювали за допомогою програми ImageJ 1.45 на цифрових мікрофотографіях, які були зроблені з використанням камери Delta Optical HDCE-50 та мікроскопа Bresser Trino Researcher. Статистичну обробку морфометричних даних проводили з використанням програм статистичного пакету аналізу даних Microsoft Excel 2010 для персонального комп'ютера з використанням t-критерію Стьюдента.

Отримані результати та їх обговорення

Нирки тварин контрольної групи мають типову гістологічну структуру без ознак патологічних процесів (рис. 1). При введенні протягом 7 тижнів похідне малеїміду не спричинює істотних змін гістологічної структури кіркового шару нирок щурів (рис. 2). У кірковому шарі помітні капсули нефрона, які мають правильну форму та рівні стінки, клубочки нефронів округлої форми, мають рівномірне кровонаповнення. Просвіт капсул вільний від стороннього вмісту. Площа поперечного перерізу капсули складає $6903,8 \pm 113,59$ мкм², а площа судинного клубочка становить $4662,04 \pm 95,93$ мкм², що не відрізняється від контрольних значень (табл. 1). Епітелій каналців щільно прилягає до базальної мембрани, цитоплазма епітеліоцитів каналців гомогенна, без ознак дистрофічних змін. Висота епітелію проксимальних ка-

нальців складає $14,09 \pm 0,07$ мкм, а дистальних $9,53 \pm 0,07$ мкм, що також не має достовірних відмінностей із контролем (табл. 2).

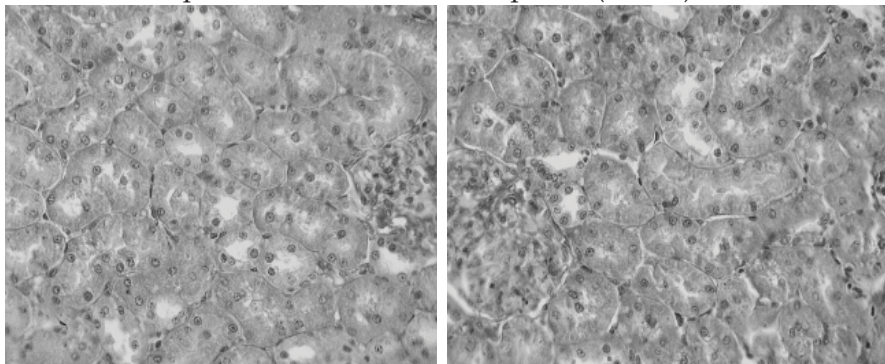


Рис. 1. Нирки щура контрольної групи; гематоксилін-еозин. $\times 400$.

Рис. 2. Нирки щура при дії похідного малеїміду протягом 7 тижнів; гематоксилін-еозин. $\times 400$.

Ядра епітеліоцитів правильної форми займають центральну частину клітин, їх становить $24,8 \pm 0,11$ мкм² та $21,64 \pm 0,08$ мкм² у проксимальних та дистальних канальцях відповідно. Просвіт канальців зяє, не розширений, діаметр просвіту канальців складає $13,45 \pm 0,23$ мкм та $13,08 \pm 0,33$ мкм у проксимальних та дистальних канальцях відповідно (табл. 2). Мозкова речовина також не має суттєвих морфологічних змін.

Таблиця 1

Вплив МІ-1, 5-ФУ та їх комбінацій на стан гломерулярного апарату нефронів щурів при ДМГ-індукованому канцерогенезі протягом 7 тижнів (M \pm m)

| Група | Площа капсули, мкм ² | Площа судинного клубочка, мкм ² |
|-----------|---------------------------------|--|
| Контроль | 6587,84 \pm 238,12 | 4891,14 \pm 108,77 |
| МІ-1 | 6903,8 \pm 113,59 | 4662,04 \pm 95,93 |
| 5-ФУ | 8524,11 \pm 168,53* | 5310,42 \pm 143,60* |
| МІ-1+5-ФУ | 9202,74 \pm 116,64* | 4955 \pm 108,04 |

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

При дії 5-ФУ протягом 7 тижнів спостерігались певні морфологічні зміни у кірковому шарі нирок (рис. 3). Просвіт між вісцеральним та парієтальним листками капсули Шумлянського-Боумена розширений, стінка капсул стає нерівною. Площа поперечного перерізу капсул нефрона збільшується на 29%, тоді як площа судинних клубочків збільшується лише на 8% (табл. 1). Такі зміни гово-

рятть про функціональне напруження нирок, що є типовою реакцією на ксенобітики. Судинні клубочки правильної форми, капіляри клубочків не спадаються, мають рівномірне кровонаповнення. Епітелій канальців кіркового шару зазнає значніших змін: епітеліальний шар стає тоншим, що особливо виражено у дистальних канальцях, спостерігалась десквамація щіткової облямівки епітелію проксимальних канальців, цитоплазма деяких клітин забарвлюється нерівномірно. Висота епітелію проксимальних канальців достовірно зменшується на 21%, а дистальних канальців на 23% відносно контролю (табл. 2). Ядра клітин втрачають овальну форму та стають гіперхромними, достовірно площа ядер не змінюється. Просвіт канальців значно збільшується (табл. 2), іноді просвіт канальців заповнений еозинофільним фібрилярним вмістом. Місцями зустрічаються ознаки запалення навколосудинних ділянок. У мозковому шарі нирок 5-ФУ викликає десквамацію епітелію незначної частини канальців.

Таблиця 2

Вплив МІ-1, 5-ФУ та їх комбінацій на стан проксимальних та дистальних канальців нирок щурів при ДМГ-індукованому канцерогенезі протягом 7 тижнів (M \pm m)

| Група | Висота епітелію, мкм | Площа ядер епітеліоцитів, мкм ² | Діаметр просвіту канальця, мкм |
|-----------------------|----------------------|--|--------------------------------|
| Проксимальні канальці | | | |
| Контроль | 14,52 \pm 0,06 | 25 \pm 0,11 | 13,24 \pm 0,19 |
| МІ-1 | 14,09 \pm 0,07 | 24,8 \pm 0,11 | 13,45 \pm 0,23 |
| 5-ФУ | 11,25 \pm 0,08* | 24,93 \pm 0,11 | 15,58 \pm 0,17* |
| МІ-1+5-ФУ | 11,3 \pm 0,09* | 25,08 \pm 0,10 | 15,86 \pm 0,18* |
| Дистальні канальці | | | |
| Контроль | 9,8 \pm 0,07 | 21,9 \pm 0,07 | 12,83 \pm 0,33 |
| МІ-1 | 9,53 \pm 0,07 | 21,64 \pm 0,08 | 13,08 \pm 0,33 |
| 5-ФУ | 7,45 \pm 0,10* | 21,3 \pm 0,10 | 16,65 \pm 0,29* |
| МІ-1+5-ФУ | 7,65 \pm 0,10* | 20,95 \pm 0,11 | 18,14 \pm 0,12* |

Примітка: * – $p < 0,05$ порівняно з контролем.

При сумісній дії МІ-1 та 5-ФУ протягом 7 тижнів морфофункціональний стан кіркового шару нирок подібний групі, що отримувала лише 5-ФУ (рис. 4). Просвіт між вісцеральним та парієтальним листками капсули Шумлянського-Боумена розширений, капсули подекуди мають неправильну форму. Площа поперечного перері-

зу капсул нефрона збільшується на 39% відносно контролю (29% у групі 5-ФУ), тоді як площа судинних клубочків має лише тенденції до збільшення (у групі 5-ФУ на 8% більша) (табл. 1).

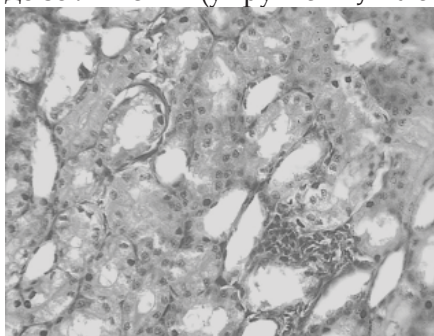


Рис. 3. Нирки щура при дії 5-фторурацилу протягом 7 тижнів; гематоксилін-еозин. x400.

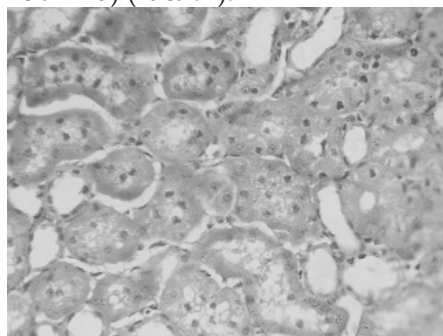


Рис. 4. Нирки щура при сумісному впливі 5-фторурацилу та похідного малеїміду протягом 7 тижнів; гематоксилін-еозин. x400.

Судинні клубочки правильної форми, капіляри клубочків спадаються лише в окремих випадках, більшість клубочків мають рівномірне кровонаповнення. Епітелій каналців коркового шару стає тоншим, що особливо яскраво проявляється у дистальних каналцях, спостерігалась десквамація щіткової облямівки епітелію проксимальних каналців, деякі епітеліоцити мають нерівномірно забарвлену цитоплазму. Висота епітелію проксимальних та дистальних каналців зменшується на 22% в обох випадках (табл. 2). Ядра клітин втрачають овальну форму та стають гіперхромними, достовірно площа ядер не змінюється. Просвіт каналців значно збільшується, його діаметр складає $13,45 \pm 0,23$ мкм та $13,08 \pm 0,33$ мкм у проксимальних та дистальних каналцях відповідно (табл. 2), іноді просвіт каналців має еозинофільний вміст, що може бути рештками епітеліоцитів. Подекуди зустрічаються ознаки запалення навколосудинних ділянок. У мозковому шарі нирок спостерігалась десквамація епітелію деяких каналців, аналогічно групі, що отримувала лише 5-ФУ.

Висновки

1. Встановлено, що введення похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону протягом 7 тижнів не призводить до змін морфофункціонального стану нирок щурів. При введенні 5-фторурацилу протягом 7 тижнів спостерігався зна-

чний нефротоксичний ефект у тубулярному апараті нирок, тоді як у гломерулярному апараті зміни, викликані дією 5-ФУ не є значними. Паралельне введення двох сполук показало повне домінування негативного впливу 5-ФУ над дією похідного малеїміду.

2. Отже, МІ-1 виявляє меншу токсичність ніж класичний протипухлинний препарат 5-фторурацил, та є перспективною сполукою для подальших досліджень.

Література

1. Дубініна Г.Г. Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону / Г.Г. Дубініна, С.М. Головач, В.О. Козловський [та ін.] // Журнал органіч. та фармацевт. хімії. – 2007. – Т. 5, № 1. – С. 39-49.
2. Пат. № 22204 (Україна). Сполуки 1,4-двозаміщені 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-діон що мають протиракову активність / Дубініна Г.Г., Воловенко Ю.М. Опубл. 25.04.2007.
3. Харчук І.В. Особливості морфофункціонального стану нирок під впливом різних доз та тривалості дії потенційного цитостатика похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону / І.В. Харчук, Н.О. Карпезо, Г.В. Островська, Т.В. Рибальченко, В.К. Рибальченко // Доп. НАН України. – 2009. – № 10. – С. 185-188.
4. Харчук І.В. Структурно-функціональний стан нирок та підшлункової залози щурів після тривалої дії новітньої таргетної сполуки – похідного малеїміду / І.В. Харчук, О.М. Філінська, С.В. Яблонська, Т.В. Рибальченко // Доповіді Національної академії наук України. – 2010, № 7. – С. 150-154.
5. Jaye M.C. Discovery of substituted maleimides as liver X receptor agonists and determination of a ligand-bound crystal structure / M.C. Jaye, J.A. Krawiec, N. Campobasso // J. Med. Chem. – 2005. – Vol. 48. – P. 5419-5422.
6. Yablonska S. Evaluation of hepatotoxicity of new cytostatic maleimide derivate / S. Yablonska, O. Filinska, G. Ostrovska [et al.] // Ann.Univers.Maria Curie-Sklodowska. – 2008. – Vol. 21, № 2. – P. 277 – 279.

Резюме

Данилов М.О., Островська Г.В., Рибальченко В.К. Порівняння впливу цитостатичних сполук похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону та 5-фторурацилу на морфофункціональний стан нирок щурів.

Наведено результати дослідження морфофункціонального стану нирок при 7-тижневому введенні похідного малеїміду, що проявляє цитостатичні ефекти у дозі 2,7 мг/кг, у порівнянні з впливом традиційного протипухлинного препарату 5-фторурацилу. Встановлено, що похідне малеїміду не чинить

пошкоджуючого впливу на нирки щурів, тоді як введення 5-фторурацилу викликає виражений нефротоксичний ефект.

Ключові слова: похідне малеїміду, 5-фторурацил, нирки, цитостатик, нефротоксичність.

Резюме

Данилов М.А., Островская Г.В., Рыбальченко В.К. Сравнение влияния цитостатических соединений производного малеимида 1 - (4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1H-пиррол-2,5-диона и 5-фторурацила на морфофункциональное состояние почек крыс.

Приведены результаты исследования морфофункционального состояния почек при 7-недельном введении производного малеимида, проявляющего цитостатические эффекты в дозе 2,7 мг/кг, по сравнению с влиянием традиционного противоопухолевого препарата 5-фторурацила. Установлено, что производное малеимида не оказывает повреждающего воздействия на почки крыс, тогда как введение 5-фторурацила вызывает выраженный нефротоксический эффект.

Ключевые слова: производное малеимида, 5-фторурацил, почки, цитостатик, нефротоксичность.

Summary

Danylov M.A., Ostrovska G.V., Rybalchenko V.K. Comparison of cytostatic compounds maleimide derivative 1 - (4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione and 5-fluorouracil on the morphofunctional status of rat's kidneys.

The results of the study morphofunctional status of the kidneys in 7-week administration maleimide derivative that exhibits cytotoxic effects in a dose of 2,7 mg/kg, compared with the influence of traditional anticancer drug 5-fluorouracil was shown. Found that maleimide derivative does not cause destructive effects on the rat's kidneys, whereas 5-fluorouracil has nephrotoxic effect.

Key words: maleimide derivative, 5-fluorouracil, kidneys, cytostatics, nephrotoxicity.

Рецензент: д.біол.н., проф. Л.П. Буцацький

УДК 579.61:615.27

БІОТЕРАПЕВТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ЛАКТОБАКТЕРІЙ

О.С. Дзюба, Т.З. Богдан, Л.Б. Орябінська, О.М. Дуган
Національний технічний університет України
«Київський політехнічний інститут»

Умови навколишнього середовища, стресові впливи, широке й неконтрольоване застосування антимікробних препаратів та нераціональне харчування спричиняють порушення динамічної рівноваги мікрофлори в організмі людини [1]. Боротьба з дисбіозами та їх наслідками є одним з пріоритетних питань у сучасній медицині, а застосування біотерапевтичних препаратів – пробіотиків, вважається основним шляхом його вирішення.

Основною групою мікроорганізмів, що застосовуються у складі сучасних пробіотиків та функціональних продуктів, є молочнокислі бактерії р. *Lactobacillus*. Вони є невід'ємним компонентом мікроекологічних систем здорових людей з підтвердженим статусом «GRAS» (звичайно безпечних) [2].

У світових наукових та медичних виданнях регулярно з'являються нові повідомлення щодо терапевтичних властивостей різних штамів молочнокислих бактерій. Тому метою роботи була актуалізація даних щодо терапевтичного потенціалу бактерій р. *Lactobacillus*. На основі аналізу наукових публікацій було визначено основні сучасні тенденції пробіотикотерапії, ключові механізми дії пробіотиків та перспективи використання бактерій р. *Lactobacillus* для подальших досліджень.

Застосування лактобактерій у терапії захворювань шлунково-кишкового тракту. Одним з найбільш вивчених напрямків застосування пробіотиків на основі бактерій р. *Lactobacillus* є профілактика та лікування розладів травної системи, що виникають на фоні порушень кишкової мікрофлори. Основними механізмами антибактеріальної дії лактобактерій вважається регуляція специфічних та неспецифічних імунних реакцій макроорганізму, синтез антимікробних субстанцій, гальмування адгезії та інвазії патогенів [3]. Показано, що завдяки біосинтетичній активності лактобактерій нормалізуються метаболічні процеси в організмі хазяїна, покращу-