

МОРФО-ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ ЩУРІВ ПРИ ДОВГОТРИВАЛОМУ ВВЕДЕННІ НОВОГО ІНГІБІТОРУ ТИРОЗИНОВИХ ПРОТЕЇНКІНАЗ ПОХІДНОГО МАЛЕЇМІДУ

О.В. Линчак, О.М. Бабута, В.К. Рибальченко

Київський національний університет ім.Тараса Шевченка

Вступ

Останніми роками в Україні продовжується пошук нових протипухлинних препаратів таргетної дії. Одним з перспективних напрямків такого пошуку є розробка препаратів, що впливають на сигнальні системи клітин, наслідком порушення роботи яких є розвиток непластичних процесів. Одним із таких препаратів є похідне малеїмїду MI-1 (1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон), що був розроблений Хіміками Київського національного університету імені Тараса Шевченка як інгібітор тирозинових протеїнкіназ. MI-1 блокує тирозинові протеїнкінази через взаємодію з їх АТФ-зв'язуючим центром [1-4].

Сполукам, що впливають на пухлинні клітини, зазвичай притаманна висока цитотоксичність. Тому **метою** наших досліджень стало вивчення довготривалого впливу даного похідного малеїмїду MI-1 на морфо-функціональний стан печінки щурів.

Матеріали і методи досліджень

Дослідження проведені у відповідності з загальними етичними принципами експериментальних робіт на тваринах, ухваленими Першим національним конгресом України з біоетики [5], іншими міжнародними угодами та національним законодавством у галузі проведення біомедичних досліджень [6, 7]. Дослідження проводили на 45 нелінійних білих щурах-самцях, яких утримували в умовах віварію. MI-1 розведений в 0,1 мл олії вводився у різних дозах інтрагастрально щодня протягом 20 та 26 тижнів. Щурі були розподілені на 4 групи: 1 - контроль дослідний (отримував 0,1 мл олії), 2 - MI-1 у дозі 0,027 мг/кг, 3 - MI-1 у дозі 2,7 мг/кг, 4 - інтактний контроль.

Тварин наркотизували та декапітували на 21 та 27 тижні експерименту. Шматочки печінки фіксували у суміші Буена, після стандартної гістологічної обробки заливали у парафін. Зрізи забарвлювали гематоксилін-еозином. Стан печінки вивчали, базуючись на візуальному аналізі препаратів та морфометричних вимірах. У печінці вимірювали площі поперечного перерізу гепатоцитів та їх ядер, окремо у централобулярній та перипортальній зонах, а також діаметр синусоїдних гемокапілярів. Математичну обробку морфометричних даних проводили з використанням програм статистичного пакету аналізу даних Microsoft Excel для персонального комп'ютера з використанням критерію Стьюдента [8].

Отримані результати та їх обговорення

У інтактній контрольній групі на гістологічних препаратах печінка щурів має типову для щурів будову. Гепатоцити утворюють тяжі, які галузяться і сходяться до центральної вени. Відмінностей в морфології гепатоцитів централобулярної та перипортальної зон не виявлено. Гепатоцити мають округлу полігональну форму, з чітко окресленими ядрами округлої форми, з ядерцями, однорідною цитоплазмою. Центральні вени і судини триад мають нормальний просвіт. Синусоїдні гемокапіляри добре виражені, містять формені елементи крові. Достовірної різниці між відповідними значеннями вимірюваних величин у різних дослідному та інтактному контролі не виявлено.

Під впливом малеїмиду МІ-1 у дозі 0,027 мг/кг як протягом 20 тижнів, так і 26 тижнів гістоархитектоніка печінки не змінюється, гепатоцити зберігають свою форму, містять округле ядро з ядерцями, однак цитоплазма гепатоцитів обох зон виглядає більш глибокою порівняно з контролем. Є поодинокі перипортальні зони з ознаками запалення. У деяких щурів в окремих ділянках виявлено стаз крові у поодиноких судинах.

На обох термінах введення МІ-1 у дозі 0,027 мг/кг площі гепатоцитів централобулярних і перипортальних зон достовірно не відрізняються від контролю. Через 20 тижнів введення малеїмиду площі гепатоцитів централобулярної і перипортальної зони відповідно становлять $319,3 \pm 9,7$ мкм² та $306,7 \pm 6,0$ мкм², тоді як площі гепатоцитів у дослідному контролі дорівнюють $297,4 \pm 18,4$ мкм² та $289,9 \pm 13,2$ мкм².

Через 26 тижнів дії MI-1 площа гепатоцитів централобулярної зони $315,2 \pm 13,9$ мкм², у контролі - $299,5 \pm 10,5$ мкм², перипортальної - $306,9 \pm 15,5$ мкм², у контролі - $304,3 \pm 12,6$ мкм². Площі ядер гепатоцитів також залишаються на рівні контролю. Через 20 тижнів введення MI-1 площа ядер гепатоцитів централобулярної зони складає $51,0 \pm 0,7$ мкм², у контролі - $50,2 \pm 2,0$ мкм², у перипортальній зоні становить $48,1 \pm 0,6$ мкм², у контролі - $47,4 \pm 1,9$ мкм². Через 26 тижнів введення MI-1 площа ядер гепатоцитів централобулярної зони складає $52,7 \pm 1,7$ мкм², у контролі - $50,2 \pm 0,8$ мкм², у перипортальній зоні - $50,3 \pm 1,3$ мкм², у контролі $49,2 \pm 1,0$ мкм². Діаметр синусоїдних гемокапілярів на 20 тижні становить $3,8 \pm 0,1$ мкм, на 26 тижні - $4,7 \pm 0,1$ мкм, ці показники не мають достовірної різниці з контролем.

Під впливом малеїміду MI-1 у дозі 2,7 мг/кг як протягом 20 тижнів, так і 26 тижнів введення препарату гістоархитектоніка печінки не змінюється. Гепатоцити та їх ядра зберігають свою форму. Поте у деяких клітинах підвищується еозинофілія цитоплазми, гепатоцити набухлі.

При введення MI-1 у даній дозі площі гепатоцитів обох зон достовірно не відрізняються від контролю. Через 20 тижнів введення малеїміду площа гепатоцитів централобулярної і перипортальної зони відповідно становить $313,1 \pm 10,7$ мкм² та $312,9 \pm 12,9$ мкм², тоді як у відповідному контролі - $297,4 \pm 18,4$ мкм² та $289,9 \pm 13,2$ мкм². Через 26 тижнів дії MI-1 площа гепатоцитів централобулярної зони становить $320,3 \pm 9,1$ мкм², перипортальної - $311,1 \pm 13,2$ мкм², у контролі відповідно - $299,5 \pm 10,5$ мкм² та $304,3 \pm 12,6$ мкм².

Площі ядер гепатоцитів при введенні MI-1 у дозі 2,7 мг/кг також залишаються на рівні контролю. Через 20 тижнів введення MI-1 площа ядер гепатоцитів централобулярної зони складає $50,8 \pm 2,0$ мкм², у контролі - $50,2 \pm 2,0$ мкм², перипортальної зони - $49,7 \pm 0,7$ мкм², у контролі - $47,4 \pm 1,9$ мкм². На 26 тижні введення MI-1 площа ядер гепатоцитів централобулярної зони складає $51,2 \pm 1,3$ мкм², у контролі - $50,2 \pm 0,8$ мкм², перипортальної - $49,9 \pm 1,2$ мкм², у контролі - $49,2 \pm 1,0$ мкм². Діаметри синусоїдних гемокапілярів через 20 тижнів введення становлять $3,6 \pm 0,2$ мкм,

через 26 тижнів - $4,4 \pm 0,2$ мкм, і достовірно не відрізняються від контролю - $3,6 \pm 0,2$ мкм та $4,6 \pm 0,1$ мкм відповідно.

Висновки

Отже, під впливом MI-1 у обох з досліджених доз (0,027 та і 2,7 мг/кг), як на 20, так і 26 тижні експерименту печінка щурів істотно не змінюється. Розміри гепатоцитів та їх ядер, а також просвіт синусоїдних гемокапілярів достовірно не відрізняється від контрольних значень. Таким чином, MI-1 не справляє токсичного впливу на печінку щурів у досліджених дозах.

Література

1. Novak K. *Conference Report - Protein Kinase Inhibitors in Cancer Treatment: Mixing and Matching?* / K. Novak // *Med. Gen. Med.* - 2004. - Vol. 6, № 2. - P. 25.

2. Pat. 22204 (UA). *Compound of 1,4-disubstituted 5-amino-1,2-dihydropyrrole-3-one having anticancer activity* / G.G. Dubinina, Yu. M. Volovenko - 21.02.2006. Appl. U200601855. 25.04.2007.

3. *Manifestation of antiproliferative effects of new kinase inhibitor in respect of normal cell* / S. Yablonska, O. Lynchak, O. Filinska [et al.] // [Life's molecular interactions. 34th FEBS congress] the FEBS Journal. - Prague, Czech Republic, 2009. - V. 276 (1). - P. 352.

4. *State of colon mucosal under the effects of new protein-tyrosine kinases inhibitor maleimide derivate* / O.Lynchak, G. Ostrovska, A. Burlaka [et al.] // Gut "GASTRO 2010 - 18th UEGW Barcelona". - 2010. - Vol. 58, Suppl II. - P. A133.

5. Мальцев В.И. *Этическая оценка методик проведения исследований* / В.И.Мальцев, Д.Ю.Белоусов // *Еженедельник Аптека.* - 2001. - № 34. - С. 35.

6. *Рекомендации Комитета по этике, проводящим экспертизу биомедицинских исследований* / Женева. - 2000.

7. Сторожков Г.И. *Оценка методик проведения исследований* / Г.И.Сторожков, Е.А.Малышева // *Качественная клиническая практика.* - 2001. - № 1. - С. 21-30.

8. Лопач С.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях Excel / С.Н. Лопач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. - Киев : Морион, 2001. - 410 с.

Резюме

Линчак О.В., Бабута О.М., Рыбальченко В.К. Морфо-функціональний стан печінки щурів при довготривалому введенні нового інгібітору тирозинових протеїнкіназ похідного малеїміду.

Досліджено вплив похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діону (MI-1) протягом 20 та 26 тижнів на морфо-функціональний стан печінки щурів. Встановлено, що дане похідне малеїміду MI-1 на обох термінах введення, як у дозі 0,027 мг/кг, так і 2,7 мг/кг, не викликає істотних змін у печінці щурів. Розміри гепатоцитів та їх ядер, а також просвіт синусоїдних гемокапілярів достовірно не відрізняється від контрольних значень. Таким чином, MI-1 не справляє токсичного впливу на печінку щурів у досліджених дозах.

Ключові слова: печінка, інгібітор тирозинових протеїнкіназ, похідне малеїміду.

Резюме

Линчак О.В., Бабута Е.Н., Рыбальченко В.К. Морфо-функціональное состояние печени крыс при длительном введении нового ингибитора тирозиновых протеинкиназ производного малеимида.

Исследовано влияние производного малеимида 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1Н-пірол-2,5-діону (MI-1) в течение 20 и 26 недель на морфо-функціональное состояние печени крыс. Установлено, что данное производное малеимида MI-1 на обоих сроках введения, как в дозе 0,027 мг/кг, так и 2,7 мг/кг, не вызывает существенных изменений в печени крыс. Размеры гепатоцитов и их ядер, а также просвет синусоидальных гемокапилляров достоверно не отличается от контрольных значений. Таким образом, MI-1 не оказывает токсического воздействия на печень крыс в исследованных дозах.

Ключевые слова: печень, ингибитор тирозиновых протеинкиназ, производное малеимида

Summary

Lynchak O.V., Babuta O.M., Rybalchenko V.K. Morpho-functional state of rat liver during long-term introduction of a new inhibitor of tyrosine protein kinases maleimide derivative.

The effect of maleimide derivative 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrol-2,5-dione (MI-1) for 20 and 26 weeks on the morphological and functional status of rat liver. Found that this maleimide derivative MI-1 in both terms of input, in a dose of 0.027 mg/kg and 2.7 mg/kg, does not cause significant changes in the rats liver. Sizes of hepatocytes and their nuclei, as well as sinusoidal lumen have not significantly different from control values. Thus, MI-1 produces no toxic effects on the rat liver in the studied doses.

Key words: liver, protein tyrosine kinases inhibitor, maleimide derivative.

Рецензент: д.біол.н., проф.С.М.Федченко