

doi: <https://doi.org/10.15407/dopovidi2018.06.105>
УДК 577.151.6+612.111.11+616.155.1-3+616.155.153

**І.В. Белінська, М.Е. Держинський,
Т.В. Рибальченко, О.В. Линчак**

Київський національний університет ім. Тараса Шевченка
E-mail: byelinska@univ.kiev.ua

Гематологічні ефекти похідного малеїміду на тлі активації еритропоезу, індукованого хлоридом кобальту

Представлено членом-кореспондентом НАН України Р.С. Стойкою

Досліджено вплив похідного малеїміду MI-1 (1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон) з протипухлинними властивостями на морфофункціональний стан клітин крові на тлі активації еритропоезу, індукованого CoCl₂. Встановлено, що MI-1 у дозі 5 мг/кг (1/100 ЛД₅₀) активує еритропоез, що підтверджується збільшенням кількості еритроцитів без змін їх об'єму та вмісту і концентрації в них гемоглобіну, зростанням гематокриту і концентрації гемоглобіну в крові. У разі спільної дії MI-1 і CoCl₂ стимуляція еритропоезу посилюється. MI-1 не змінює кількості тромбоцитів у крові, але зумовлює незначне зменшення вмісту лейкоцитів за рахунок нейтрофільних гранулоцитів, моноцитів і лімфоцитів порівняно з контролем, що свідчить про пригнічення лейкопоезу. Отже, стимулюючий вплив MI-1 на еритропоез і низька гематотоксичність даної сполуки свідчать про її переваги порівняно з традиційними протипухлинними засобами.

Ключові слова: похідне малеїміду, інгібітор протеїнкіназ, еритроцити, лейкоцити, тромбоцити.

Створення нових сполук з протипухлинною активністю і низькою загальною токсичністю залишається пріоритетним напрямком досліджень у біології і медицині. Одним із способів регуляції проліферативної активності є пригнічення функціонально активних ферментів-кіназ, які в пухлинних клітинах забезпечують їх виживання і неконтрольований поділ цільовими (таргетними) препаратами [1, 2]. Похідне малеїміду (MI-1) 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон розроблено *in silico* і синтезовано на хімічному факультеті Київського національного університету ім. Тараса Шевченка як конкурентний інгібітор АТФ-зв'язувального сайту протеїнкіназ [7]. MI-1 *in vitro* інгібує VEGF-R1,2,3, PDK1, FGF-R1, YES, EGF-R(h), Src (h), ZAP70, Syk (h) та інші кінази (ProQinase GmbH, Німеччина), а також пригнічує проліферацію пухлинних клітин ліній: HCT-116 і SW-620 (колоноректального раку), MALME-3M й UACC (меланоми), A549/ATCC та NCI-H226 (не-

дрібноклітинного раку легень) тощо [3]. У дослідженнях *in vivo* доведено, що МІ-1 зменшує кількість пухлин та площу ураження товстої кишки за умов 1,2-диметилгідразин (ДМГ)-індукованого колоректального раку, що свідчить про його протипухлинну активність [4], і нормалізує за цих умов кількість моноцитів та тромбоцитів у крові, а також запобігає розвитку анемії [5]. Крім того, цій сполуці притаманні антиоксидантні властивості [6], відсутність гематотоксичності [7] і низька токсичність щодо органів шлунково-кишкового тракту та печінки, нирок і підшлункової залози [8].

За результатами попередніх досліджень встановлено, що МІ-1 у 5- і 10-кратній від ефективної протипухлинної дозі активує еритропоез [9]. Оскільки протеїнкінази, активність яких інгібує МІ-1, залучені до регуляції проліферації і диференціювання гемопоетичних клітин [10], у тому числі еритроцитарного напрямку диференціювання [11], необхідним було з'ясувати ефекти МІ-1 на тлі активації еритропоезу. Одним із способів такої активації є введення в організм хлориду кобальту [12], який у високих дозах ($1/2$ ЛД₅₀) спричиняє розвиток оксидативного стресу [13]. Оскільки похідне малеїміду МІ-1 виявляє антиоксидантні властивості та запобігає розвитку анемії за умов ДМГ-індукованого канцерогенезу [5], був досліджений його вплив у дозі $1/100$ ЛД₅₀ на тлі активації еритропоезу і оксидативного стресу, індукованого хлоридом кобальту. Кобальт — важливий біологічно активний елемент, який входить до складу вітаміну В₁₂ (кобаламіну), необхідного для функціонування кровотворної та нервової систем (для утворення мієліну), печінки та ін. Кобальт бере участь у метаболізмі жирів, синтезі білків, перетворенні фолатів в активну форму, підвищує активність карбоксилази, каталази, пептидази, пригнічує цитохромоксидазу і синтез тироксину. Недостатність кобальту в організмі з боку кровотворної системи зумовлює розвиток мегалобластної анемії, що лікується вітаміном В₁₂ [14]. Гематотоксичний вплив кобальту проявляється поліцетемією [15]. Тому за мету дослідження ставилося проаналізувати ефективність впливу МІ-1 на тлі активації еритропоезу за умов розвитку оксидативного стресу, індукованого хлоридом кобальту.

Матеріали та методи. Експерименти проводили на 37 білих щурах-самцях масою 200—300 г, яких утримували в стандартних умовах віварію Київського національного університету. МІ-1 (розчинений у соняшниковій олії) вводили тваринам щоденно перорально в дозі 5 мг/кг ($1/100$ ЛД₅₀) і хлорид кобальту ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) — внутрішньоочеревинно у дозі 15 мг/кг, що розчинений у 0,9 % NaCl, протягом 10 діб. Тварин було поділено на чотири групи, що отримували: I (контрольна) — соняшникову олію та 0,9 % NaCl; II — МІ-1 та 0,9 % NaCl; III — CoCl_2 та соняшникову олію; IV — МІ-1 та CoCl_2 .

МІ-1 вводили за 2 год до введення хлориду кобальту. Кров для аналізу у щурів після інгаляційного ефірного наркозу забирали з пахової вени через 24 год після останнього введення досліджуваних речовин. Показники крові (кількість еритроцитів, концентрація гемоглобіну в крові, гематокрит, середній об'єм еритроцита — MCV, середній вміст гемоглобіну в еритроциті — MCH, середня концентрація гемоглобіну в еритроциті — MCHC, кількість лейкоцитів і тромбоцитів) визначали загальноприйнятими методами. Диференційний аналіз лейкограм здійснювали на мазках крові, забарвлених за Паппенгеймом, підраховуючи 200 лейкоцитів (базофільні, еозинофільні і нейтрофільні гранулоцити, лімфоцити, моноцити).

Статистичну обробку результатів виконували за допомогою програми SPSS 16,0 для Windows. За результатами тесту Шапіро—Уїлка встановлено, що показники крові щурів

мають аномальний розподіл в одній з груп порівняння, тому для оцінки різниці між їх значеннями використовували критерій Крускала—Уолліса для множинних порівнянь з подальшим застосуванням непараметричного критерію Манна—Уїтні. Обчислювали медіану, 25-й і 75-й процентилі, найбільше і найменше значення в групах. Порівнювали показники груп з контролем (три попарних порівняння) і між експериментальними групами. Різницю вважали вірогідною при $p < 0,01$.

Результати досліджень та їх обговорення. Встановлено, що введення тваринам хлориду кобальту спричиняє істотні зміни в морфофункціональному стані еритроцитів: збільшуються концентрація гемоглобіну в крові ($p = 0,001$), кількість еритроцитів ($p = 0,001$), гематокрит ($p < 0,001$), середній вміст гемоглобіну в еритроцитах (МСН, $p = 0,004$), об'єм еритроцитів (МСV, $p = 0,003$) і кількість ретикулоцитів ($p = 0,017$, табл. 1), що свідчить про стимуляцію еритропоезу і узгоджується з даними літератури [12, 15].

Застосування МІ-1 у дозі 5 мг/кг спричиняє модулюючий вплив на еритропоез: збільшується концентрація гемоглобіну ($p = 0,020$), кількість еритроцитів ($p = 0,036$), гематокрит ($p = 0,018$) у крові, без змін МСV, МСН, МСНС, що узгоджується із результатами дослідження впливу МІ-1 у 5-кратній від ефективної протипухлинної дозі (13,5 мг/кг). Такі зміни можуть бути обумовлені як прямою активацією еритропоезу, так і зменшенням тривалості життя еритроцитів, внаслідок чого відбувається активація еритропоезу для покриття їх дефіциту. Стимуляція еритропоезу і синтезу гемоглобіну в еритроцитах хлоридом кобальту переважає такі зміни, що відбуваються під дією МІ-1, про що свідчить більш істотне зростання концентрації гемоглобіну в крові ($p = 0,003$) та його середнього вмісту в еритроциті ($p = 0,012$), збільшення гематокриту ($p = 0,019$) і МСV ($p = 0,015$) (див. табл. 1).

У разі спільної дії МІ-1 і CoCl_2 стимуляція еритропоезу посилюється, про що свідчить зростання концентрації гемоглобіну, еритроцитів і гематокриту та ретикулоцитів у крові

Таблиця 1. Показники морфофункціонального стану еритроцитів крові щурів за умов впливу похідного малеїміду МІ-1, хлориду кобальту CoCl_2 та їх спільної дії

Показник	Група			
	контрольна	МІ-1, 5 мг/кг	CoCl_2 , 15 мг/кг	МІ-1+ CoCl_2
Еритроцити, $\cdot 10^{12}/\text{л}$	6,81 (6,56; 6,87)	6,98 (6,86; 7,11)	7,16* (7,01; 7,40)	7,48*# (7,36; 7,65)
Гемоглобін, г/л	124,00 (123,47; 129,52)	134,00 (130,45; 134,84)	147,21*# (137,23; 149,60)	143,82*# (140,82; 157,48)
Гематокрит, %	44,93 (44,20; 45,71)	47,83 (47,06; 48,57)	49,30*# (48,53; 54,29)	51,45*# (51,07; 55,07)
МСН, пг	18,79 (18,13; 19,75)	18,85 (18,69; 19,48)	20,22* (19,92; 21,09)	19,48 (18,57; 20,33)
МСНС, г/л	312,14 (308,96; 323,31)	314,37 (310,50; 325,16)	322,89 (318,13; 323,68)	313,51 (310,20; 316,97)
МСV, фл	67,25 (66,16; 68,24)	68,60 (66,31; 69,59)	70,63* (69,23; 73,33)	70,17* (67,82; 72,37)
Ретикулоцити, $\cdot 10^{12}/\text{л}$	2,20 (1,50; 3,15)	2,00 (2,00; 3,35)	2,75 (2,63; 2,88)	3,20 (2,10; 4,50)

* $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою. # $p < 0,01$ порівняно з групою МІ-1.

порівняно з контрольною групою ($p = 0,001$; $p < 0,001$; $p < 0,001$; $p = 0,019$ відповідно), з впливом одного МІ-1 ($p = 0,007$; $p = 0,007$; $p = 0,001$ відповідно) і кількості еритроцитів порівняно з хлоридом кобальту ($p = 0,030$; див. табл. 1).

Підвищення концентрації гемоглобіну і кількості еритроцитів після введення хлориду кобальту може бути пов'язане з вищим рівнем утворення еритропоетину. Дане твердження ґрунтується на результатах досліджень, в яких показано істотне збільшення експресії гена еритропоетину під дією хлориду кобальту [12]. Еритропоетин – це гормон, який посилює утворення еритроцитів у кістковому мозку [14]. Показано, що хлорид кобальту підвищує інтенсивність синтезу гемоглобіну в ретикулоцитах [12].

Активуючий вплив сполук кобальту на кровотворення, а саме еритропоез, використовують для лікування анемії [14], а також для підвищення рівня результатів спортсменів [12]. Стимулюючий вплив на еритропоез також здійснюють і комплексні сполуки, до складу яких входить кобальт. Разом з тим сполуки кобальту в підвищених дозах чинять токсичний вплив на клітини різних тканин, у тому числі і на клітини крові [13, 15]. Вони вступають у хімічні реакції, в результаті яких утворюються активні форми кисню, які змінюють струк-

Таблиця 2. Загальний вміст і склад лейкоцитів (медіана, 25-й і 75-й процентилі) у нормі, за умов впливу CoCl_2 , похідного малеїміду та їх сумісної дії

Показник	Од. вимір.	Група			
		контрольна	МІ-1, 5 мг/кг	CoCl_2 , 15 мг/кг	МІ-1+ CoCl_2 ,
Лейкоцити	$\cdot 10^9/\text{л}$	19,00 (13,55; 23,75)	12,50 (8,60; 12,90)	19,40 (10,80; 25,30)	12,45 (9,08; 16,03)
Паличкоядерні нейтрофільні гранулоцити	%	2,00 (1,25; 2,75)	1,50 (1,00; 2,00)	0,50 (0,50; 1,50)	1,00 (0,38; 1,00)
	$\cdot 10^9/\text{л}$	0,38 (0,21; 0,44)	0,16 (0,13; 0,17)	0,11 (0,04; 0,38)	0,09 (0,06; 0,15)
Сегментоядерні нейтрофільні гранулоцити	%	18,50 (16,75; 22,50)	19,00 (17,50; 23,00)	12,50 (10,00; 13,50)	19,50 (17,00; 22,00)
	$\cdot 10^9/\text{л}$	3,25 (2,49; 4,43)	2,63 (1,63; 2,91)	2,18 (1,08; 3,79)	2,10 (1,86; 2,91)
Лімфоцити	%	71,50 (69,50; 74,75)	72,50 (68,50; 73,00)	77,00 (76,00; 79,00)	72,50 (71,38; 76,88)
	$\cdot 10^9/\text{л}$	12,84 (10,01; 17,95)	8,56 (6,11; 9,35)	13,29 (9,02; 18,82)	8,98 (6,45; 12,72)
Моноцити	%	7,00 (5,00; 8,00)	6,00 (4,00; 6,50)	7,50 (5,00; 10,00)	4,50 (3,75; 5,63)
	$\cdot 10^9/\text{л}$	1,29 (0,71; 1,57)	0,56 (0,34; 1,02)	1,27 (0,83; 2,12)	0,46* & (0,41; 0,56)
Еозинофільні гранулоцити	%	0,50 (0,50; 1,25)	1,00 (0,50; 1,50)	0,50 (0,50; 1,50)	0,75 (0,38; 1,00)
	$\cdot 10^9/\text{л}$	0,10 (0,06; 0,31)	0,09 (0,06; 0,22)	0,11 (0,05; 0,38)	0,09 (0,04; 0,17)

* $p < 0,01$ порівняно з контрольною групою. & $p < 0,01$ порівняно з групою CoCl_2 .

туру білків і підвищують пероксидне окиснення ліпідів мембран, що призводить до крихкості мембран еритроцитів і, як наслідок, до гемолізу останніх.

Кількість тромбоцитів (рисунок) і лейкоцитів під впливом CoCl_2 не змінюється (табл. 2). Аналіз розподілу лейкоцитів свідчить про зменшення вмісту еозинофільних ($p = 0,050$) і нейтрофільних ($p = 0,048$) гранулоцитів порівняно з контролем. Кількість лімфоцитів за цих умов істотно не змінюється ($p = 0,057$).

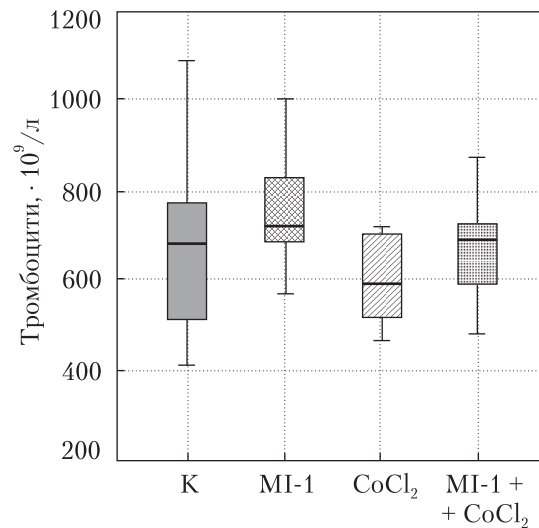
Похідне малеїміду MI-1 не впливає на кількість тромбоцитів у крові (див. рисунок), але призводить до зменшення вмісту лейкоцитів ($p = 0,017$, див. табл. 2) за рахунок зменшення вмісту нейтрофільних гранулоцитів ($p = 0,044$), моноцитів ($p = 0,025$) і лімфоцитів ($p = 0,048$) порівняно з контролем. Такі зміни можуть бути обумовлені пригніченням проліферації і диференціювання гемопоетичних клітин, оскільки лейкопенія, нейтропенія і моноцитопенія реєструвалась нами після місячного введення MI-1 2,7 мг/кг, але ці зміни компенсувались після хронічного застосування MI-1 [7]. Крім того, зменшення кількості лейкоцитів у крові пов'язане з активним виходом їх до різних тканин внаслідок розвитку запалення, що показано в дослідженнях [8, 9], та відновлення тканин, до якого залучені моноцити.

Сумісний вплив MI-1 і CoCl_2 призводить до зменшення вмісту лейкоцитів ($p = 0,026$; див. табл. 2) за рахунок зменшення вмісту моноцитів ($p = 0,003$) порівняно з контролем. Кількість нейтрофільних гранулоцитів ($p = 0,069$) і лімфоцитів ($p = 0,069$) істотно не змінюється. Порівняно з впливом одного CoCl_2 зменшується вміст моноцитів ($p = 0,008$; див. табл. 2), що підтверджує більш інтенсивний їх вихід до осередків запалення та участь у відновленні тканин. При цьому вміст лімфоцитів істотно не змінюється ($p = 0,068$).

Дослідження впливу сполук кобальту на лейкоцити крові виявило генотоксичний ефект, що підтверджується збільшенням кількості клітин з мікроядрами та фрагментами ДНК у цих клітинах [15]. Ці іони також знижують функціональну активність нейтрофілів, що підтверджується пригніченням екзоцитозу і респіраторного вибуху. Показане зменшення відсотка нейтрофільних гранулоцитів, ймовірно, є наслідком токсичного впливу іонів кобальту. Іони кобальту чинять цитотоксичний вплив на Т-лімфоцити.

Таким чином, сумісний вплив похідного малеїміду MI-1 і хлориду кобальту зумовлює посилення активації еритропоезу, про що свідчить зростання концентрації гемоглобіну, кількості еритроцитів і ретикулоцитів та гематокриту в крові порівняно з контрольною групою та впливом одного MI-1. За цих умов виявлено збільшення кількості еритроцитів у крові порівняно з ефектами хлориду кобальту.

Отже, результати дослідження впливу похідного малеїміду MI-1 на тлі активації еритропоезу, індукованого хлоридом кобальту, свідчать про стимуляцію сполукою ери-



Вміст тромбоцитів у крові щурів за умов впливу MI-1 у дозі 5 мг/кг, CoCl_2 у дозі 0,15 мг/кг та їх сумісної дії

тропоезу і про низьку її гематотоксичність. Це вказує на її перевагу як протипухлинного чинника, порівняно з традиційними протипухлинними засобами, які пригнічують еритропоез і мієлопоез.

ЦИТОВАНА ЛІТЕРАТУРА

1. Sviezhentseva I.O., Perekhrestenko T.P., Bilko D.I., Gordienko A.I., Diachenko M.V., Dyagil I.S. Functional activity of CD34-positive cells in chronic myeloid leukemia patients with different response to imatinib therapy. *Exp Oncol.* 2015. **37**, № 1. P. 70–72.
2. Cortes J.E., Kim D.W., Kantarjian H.M., Brümmendorf T.H., Dyagil I., Griskevicius L., Malhotra H., Powell C., Gogat K., Countouriotis A.M., Gambacorti-Passerini C. Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: Results from the BELA trial. *J. Clin. Oncol.* 2012. **30**, № 28. P. 3486–3492. doi: <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.7522>
3. Дубініна Г.Г., Головач С.М., Козловський В.О., Толмачов А.О., Воловенко Ю.М. Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону. *Журн. орган. та фармацевт. хімії.* 2007. **5**, № 1. С. 39–49.
4. Lynchak O.V., Prylutskyu Yu.I., Rybalchenko V.K., Kuzyma O.A., Soloviov D., Kostjukov V.V., Evstigneev M.P., Ritter U., Scharff P. Comparative analysis of the antineoplastic activity of C⁶⁰ fullerene with 5-fluorouracil and pyrrole derivative in vivo. *Nanoscale Res Lett.* 2017. **12**, № 8. doi: <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1775-0>
5. Белінська І.В., Линчак О.В., Рибальченко Т.В., Гурняк О.М. Гематологічні ефекти інгібітора протеїнкіназ похідного малеїміду за 1,2-диметилгідразиніндукованого канцерогенезу товстої кишки щурів. *Фізіол. журн.* 2014. **60**, № 4. С. 40–49. doi: <https://doi.org/10.15407/fz60.04.040>
6. Філінська О.М., Яблонська С.В., Мандрик С.Я., Харчук І.В., Островська Г.В., Рибальченко В.К. Стан антиоксидантної системи печінки та вміст матриксної металопротеїнази товстого кишечника у разі дії похідного малеїміду за експериментального колоректального канцерогенезу щурів. *Укр. біохім. журн.* 2010. **82**, № 4. С. 69–77.
7. Белінська І.В., Линчак О.В., Цивінська С.М., Рибальченко В.К. Морфологічна характеристика клітин крові за умов хронічного впливу похідного малеїміду – інгібітора протеїнкіназ. *Фізіол. журн.* 2015. **61**, № 4. С. 71–77. doi: <https://doi.org/10.15407/fz61.04.071>
8. Харчук І.В., Філінська О.М., Яблонська С.В., Рибальченко Т.В. Структурно-функціональний стан нирок та підшлункової залози щурів після тривалої дії новітньої таргетної сполуки – похідного малеїміду. *Допов. Нац. акад. наук Укр.* 2010. № 7. С. 150–154.
9. Белінська І.В., Рибальченко Т.В., Цивінська С.М., Рибальченко В.К. Гематологічні ефекти інгібітора протеїнкіназ похідного малеїміду і 5-фторурацилу. *Фізіол. журн.* 2017. **63**, № 4. С. 37–47. doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.04.037>
10. Bononi A., Agnoletto C., De Marchi E., Marchi S., Patergnani S., Bonora M., Giorgi C., Missiroli S., Poletti F., Rimessi A., Pinton P. Protein kinases and phosphatases in the control of cell fate. *Enzyme Res.* 2011. **2011**. P. 26. doi: <https://doi.org/10.4061/2011/329098>
11. Bhata S.S., Wroblewski K.E., Agarwal K.L., Sit L., Cohen E.E., Seiwert T.Y., Karrison T., Bakris G.L., Ratain M.J., Vokes E.E., Maitland M.L. Effects of vascular endothelial growth factor signaling inhibition on human erythropoiesis. *Oncologist.* 2013. **18**, № 8. P. 965–970. doi: <https://doi.org/10.1634/theoncologist.2013-0006>
12. Ebert B., Jelkmann W. Intolerability of cobalt salt as erythropoietic agent. *Drug Test Anal.* 2014. **6**, № 3. P. 185–189. doi: <https://doi.org/10.1002/dta.1528>
13. Яблонська С.В., Філінська О.М., Островська Г.В., Рибальченко В.К. Оцінка гепатотоксичності нового похідного малеїміду з цитостатичною активністю і його вплив на пероксидне окислення та антиоксидантну систему печінки. *Укр. біохім. журн.* 2009. № 5. С. 22–28.
14. Kaushansky K., Lichtman M.A., Kipps T.J., Seligsohn U., Prchal J. Williams hematology. 8th ed. Columbus: TheMcGraw-HillCompanies, 2010. 2440 p.
15. Simonsen L.O., Harbak H., Bennekou P. Cobalt metabolism and toxicology – a brief update. *SciTotalEnviron.* 2012. **15**, № 432. P. 210–215. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.009>

Надійшло до редакції 02.03.2018

REFERENCES

1. Sviezhentseva, I. O., Perekhrestenko, T. P., Bilko, D. I., Gordienko, A. I., Diachenko, M. V. & Dyagil, I. S. (2015). Functional activity of CD34-positive cells in chronic myeloid leukemia patients with different response to imatinib therapy. *Exp. Oncol.*, 37, No. 1, pp. 70-72.
2. Cortes, J. E., Kim, D. W., Kantarjian, H. M., Brümmendorf, T. H., Dyagil, I., Griskevicius, L., Malhotra, H., Powell, C., Gogat, K., Countouriotis, A. M. & Gambacorti-Passerini, C. (2012). Bosutinib versus imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: Results from the BELA trial. *J. Clin. Oncol.*, 30, No. 28, pp. 3486-3492. doi: <https://doi.org/10.1200/JCO.2011.38.7522>
3. Dubinina, G. G., Golovach, S. M., Kozlovsky, V. O., Tolmachov, A. O. & Volovenko, Yu. M. (2007). Anti-proliferative activity of the new derivatives of 1-(4-R-benzyl)-3-R1-4-(R2-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione. *Zh. Organ. ta Farm. Khimii*, 5, No. 1, pp. 39-49 (in Ukrainian).
4. Lynchak, O. V., Prylutsky, Yu. I., Rybalchenko, V. K., Kyzyma, O. A., Soloviov, D., Kostjukov, V. V., Evstigneev, M. P., Ritter, U. & Scharff, P. (2017). Comparative analysis of the antineoplastic activity of C⁶⁰ fullerene with 5-fluorouracil and pyrrole derivative in vivo. *Nanoscale Res. Lett.*, 12, No. 8, pp. 1-6. doi: <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1775-0>
5. Byelinska, I. V., Lynchak, O. V., Rybalchenko, T. V. & Gurnyak, O. M. (2014). Hematological effects of the protein kinases inhibitor maleimide derivative of dimethylhydrazine-induced colorectal carcinogenesis of rats. *Fiziol. Zh.*, 60, No. 4, pp. 40-49 (in Ukrainian). doi: <https://doi.org/10.15407/fz60.04.040>
6. Filinska, O. M., Yablonska, S. V., Mandryk, S. Y., Kharchuk, I. V., Ostrovska, G. V., & Rybalchenko, V. K. (2010). State of the liver antioxidant system and content of matrix metalloproteinase-2 of large intestine under the effect of maleimide derivative in experimental colon carcinogenesis in rats. *Ukr. Biochem. J.*, 82, No. 4, pp. 69-77 (in Ukrainian).
7. Byelinska, I. V., Lynchak, O. V., Tsyvinska, S. M., Rybalchenko, V. K. (2015). Morphofunctional state of blood cells after chronic exposure of the protein kinases inhibitor maleimide derivative. *Fiziol. Zh.*, 61, No. 4, pp. 71-77 (in Ukrainian). doi: <https://doi.org/10.15407/fz61.04.071>
8. Kharchuk, I. V., Filinska, O. M., Yablonska, S. V. & Rybalchenko, T. V. (2010). The structure functional status of rat kidney and pancreas after the long-term influence of novel targeted-action compound – maleimide derivative. *Dopov. Nac. acad. nauk Ukr.*, No. 7, pp. 150-154 (in Ukrainian).
9. Byelinska, I. V., Rybalchenko, T. V., Tsyvinska, S. M. & Rybalchenko, V. K. (2017). The hematological effects of the proteine kinases inhibitor maleimide derivative and 5-fluorouracil. *Fiziol. Zh.*, 63, No. 4, pp. 37-47 (in Ukrainian). doi: <https://doi.org/10.15407/fz63.04.037>
10. Bononi, A., Agnoletto, C., De Marchi, E., Marchi, S., Patergnani, S., Bonora, M., Giorgi, C., Missiroli, S., Poletti, F., Rimessi, A. & Pinton, P. (2011). Protein kinases and phosphatases in the control of cell fate. *Enzyme Res.*, 2011, pp. 26. doi: <https://doi.org/10.4061/2011/329098>
11. Bhata, S. S., Wroblewski, K. E., Agarwal, K. L., Sit, L., Cohen, E. E., Seiwert, T. Y., Karrison, T., Bakris, G. L., Ratain, M. J., Vokes, E. E. & Maitland, M. L. (2013). Effects of vascular endothelial growth factor signaling inhibition on human erythropoiesis. *Oncologist*, 18, No. 8, pp. 965-970. doi: <https://doi.org/1634/theoncologist.2013-0006>
12. Ebert, B. & Jelkmann, W. (2014). Intolerability of cobalt salt as erythropoietic agent. *Drug Test Anal.*, 6, No. 3, pp. 185-189. doi: <https://doi.org/10.1002/dta.1528>
13. Yablonska, S. V., Filinska, O. M., Ostrovska, G. V. & Rybalchenko, V. K. (2009). Evaluation of hepatotoxicity of novel maleimide derivative with cytostatic activity and its influence on peroxidation process and antioxidant system in liver. *Ukr. Biokhim. Zh.*, 81, No. 5, pp. 83-92 (in Ukrainian).
14. Kaushansky, K., Lichtman, M. A., Kipps, T. J., Seligsohn, U. & Prchal, J. (2010). *Williams hematology*. 8th ed. Columbus: TheMcGraw-HillCompanies.
15. Simonsen, L. O., Harbak, H. & Bennekou, P. (2012). Cobalt metabolism and toxicology – a brief update. *SciTotalEnviron.*, 15, No. 432, pp. 210-215. doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2012.06.009>

Received 02.03.2018

*І.В. Белінська, Н.Э. Дзержинский,
Т.В. Рыбальченко, О.В. Линчак*

Киевский национальный университет им. Тараса Шевченко
E-mail: byelinska@univ.kiev.ua

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ ПРОИЗВОДНОГО МАЛЕИМИДА ПРИ АКТИВАЦИИ ЭРИТРОПОЭЗА, ИНДУЦИРОВАННОГО ХЛОРИДОМ КОБАЛЬТА

Исследовано влияние производного малеимида MI-1 (1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-фениламино)-1H-пиррол-2,5-дион) с противоопухолевой активностью на морфофункциональное состояние клеток крови при активации эритропоэза, индуцированного CoCl₂. Показано, что MI-1 в дозе 5 мг/кг (1/100 LD₅₀) активирует эритропоэз, что подтверждается увеличением количества эритроцитов, повышением гематокрита и концентрации гемоглобина в крови. При совместном действии MI-1 и CoCl₂ стимуляция эритропоэза усиливается. MI-1 не влияет на количество тромбоцитов в крови, но незначительно уменьшает количество лейкоцитов за счет нейтрофильных гранулоцитов, моноцитов и лимфоцитов, что свидетельствует об угнетении лейкопоэза. Таким образом, стимулирующее влияние MI-1 на эритропоэз и низкая гематотоксичность данного соединения свидетельствует о его преимуществе в сравнении с традиционными противоопухолевыми средствами.

Ключевые слова: производное малеимида, ингибитор протеинкиназ, эритроциты, лейкоциты, тромбоциты.

*I.V. Byelinska, M.E. Dzerzhynsky,
T.V. Rybalchenko, O.V. Lynchak*

Taras Shevchenko National University of Kiev
E-mail: byelinska@univ.kiev.ua

HEMATOLOGICAL EFFECTS OF THE MALEIMIDE DERIVATIVE DURING THE ACTIVATION OF ERYTHROPOIESIS INDUCED BY COBALT CHLORIDE

The effect of the protein kinase inhibitor maleimide derivative (MI-1, 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1Hpyrrole-2,5-dione) with antitumor activity on the condition of blood cells during the activation of erythropoiesis induced by cobalt chloride has been studied. It is shown that MI-1 in a dose of 5 mg/kg (1/100 LD₅₀) activates erythropoiesis, which is confirmed by an increase in the number of red blood cells, hematocrit, and the hemoglobin concentration in blood. With the combined action of MI-1 and CoCl₂, the erythropoiesis stimulation is enhanced. MI-1 does not change the number of platelets in blood, but it slightly reduces the number of leukocytes due to neutrophilic granulocytes, monocytes, and lymphocytes, which testifies to the suppression of leukopoiesis. Thus, the stimulating effect of MI-1 on erythropoiesis and the low hematotoxicity of this compound indicate its superiority in comparison with traditional antitumor agents.

Keywords: maleimide derivative, protein kinases inhibitor, red blood cells, leukocytes, platelets.