

І. В. Харчук, О. А. Столяр, Г. В. Островська, В. К. Рибальченко

## Порівняння стану міокарда під впливом нової цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу

(Представлено членом-кореспондентом НАН України М. Ю. Євтушенком)

*Похідне 1,2-дигідропіролу (Д-1) перевищує вплив 5-фторурацилу на кровонаповнення міокарда, збільшуючи діаметр капілярів. Д-1 частково усуває негативні наслідки впливу оксидативного стресу на серцевий м'яз. Деяка гіпертрофія кардіоміоцитів за умов дії Д-1 на фоні оксидативного стресу свідчить про мобілізацію синтетичного потенціалу клітин серця під впливом даної сполуки, що може бути позитивним в умовах порушення прооксидантно-оксидантної рівноваги при канцерогенезі.*

Більшість існуючих хіміотерапевтичних засобів крім злоякісних клітин, уражують також клітини крові, епітелію ротової порожнини, шлунка і кишечника, а також серце, нирки та інші органи. Саме тому хіміотерапія завжди асоційована з численними побічними ефектами. Важливим завданням сучасної протипухлинної терапії є пошук високоселективних та малотоксичних препаратів [1]. Особливої уваги для вибору оптимальної стратегії лікування заслуговує дослідження кардіотоксичності нових потенційних препаратів з урахуванням тих станів, що супроводжують канцерогенез, зокрема при порушенні прооксидантно-антиоксидантної рівноваги.

Одним із таких нових препаратів є АТФ-конкурентний інгібітор тирозинкіназ похідне дигідропіролу 1,4-заміщений 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-он (Д-1), що був синтезований за допомогою *in silico* дизайну Науково-виробничим хіміко-біологічним центром Київського національного університету ім. Тараса Шевченка [2]. Попередні дослідження показали, що Д-1 пригнічує проліферацію декількох ракових ліній клітин, найбільша ефективність була показана на лініях злоякісних клітин К-562 (еритролейкемія), ССRF-СЕМ (лімфобластна лейкемія), MDA-MB-435 (рак молочної залози), НСТ-15 (рак товстої кишки) та SNB-75 (нейробластома). У досліджах *in vivo* для Д-1 встановлена низька токсичність по відношенню до слизової оболонки тонкої та товстої кишок щурів і відсутність пригнічення процесів проліферації [3, 4].

Мета нашого дослідження — вивчення впливу нової цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу Д-1 на морфологію міокарда та його порівняння з дією традиційного протипухлинного препарату 5-фторурацилу (5-ФУ), а також визначення впливу Д-1 на міокард за умов оксидативного стресу.

Дослідження проводили на 24 білих щурах-самцях масою 200–250 г. Д-1 у дозі 2,3 мг/кг та 5-ФУ в дозі 45 мг/кг вводили перорально. Оксидативний стрес викликали внутрішньоочеревинним введенням  $\text{CoCl}_2$  у дозі 13 мг/кг [5]. Усі речовини вводили натщесерце щоденно протягом 10 діб. Після стандартної гістологічної обробки зрізи міокарда досліджували за допомогою мікроскопа Olympus BX-41 та програми ImageJ, вимірювали діаметр капілярів для оцінки ступеня кровопостачання міокарда, а також товщину кардіоміоци-

тів (КМЦ) та площу їх ядер з метою виявлення впливу на біосинтетичні процеси. Статистичну обробку проводили з використанням U-тесту Манна–Уїтні за допомогою програми STATISTICA 7.

М'язові волокна міокарда щурів, що отримували новосинтезовану сполуку Д-1, мають приблизно однакову товщину і форму. Цитоплазма клітин забарвлюється рівномірно еозинном у рожевий колір, у ній виявляється поперечна посмугованість. Ядра займають центральне положення і мають овальну форму. Товщина КМЦ та площа їх ядер достовірно не відрізняється від значень контрольної групи (табл. 1). У міокарді щурів, яким вводили препарат порівняння 5-ФУ, спостерігається незначне витончення м'язових волокон, але значення товщини КМЦ достовірно не відрізняється від контролю. Поперечна посмугованість не чітко виражена. Ядра мають овальну форму і займають у клітині центральне положення.

Під впливом обох сполук підвищується кровонаповнення капілярів, що призводить до їх нерівномірного розширення (рис. 1). Під впливом 5-ФУ середнє значення діаметра капілярів збільшується на 9,6%, під впливом Д-1 — на 26,4% порівняно з контрольною групою (див. табл. 1). 5-ФУ викликає подекуди вихід еритроцитів з кровоносного русла. За дії обох сполук характерним є наявність лейкоцитарних інфільтратів у стінці невеликих судин та збільшення кількості лімфоцитів, фібробластів та тучних клітин у міжм'язових проміжках, що може свідчити про збільшення функціонального напруження органа в цілому.

Отже, як 5-ФУ, так і Д-1 викликають зміни у кровонаповненні міокарда, збільшуючи діаметр капілярів, але ефект Д-1 перевищує дію 5-ФУ.

Оскільки для іншого АТФ-конкурентного інгібітора тирозинкіназ похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF<sub>3</sub>-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону (МІ-1) були встановлені деякі антиоксидантні властивості [6], дослідження впливу Д-1 на серцевий м'яз за умов оксидативного стресу стало наступним етапом роботи. Встановлено, що у тварин з СоСl<sub>2</sub>-індукованим оксидативним стресом м'язовий шар переважно залишається цілісним, м'язові волокна розміщуються пучками, однак більшість з них витончується (табл. 2), а в окремих волокон спостерігаються значні деструктивні зміни. Поперечна посмугованість КМЦ виражена

Таблиця 1. Морфометричні параметри міокарда щурів під впливом Д-1 та 5-ФУ

Експериментальна група	Товщина КМЦ, мкм	Площа ядер КМЦ, мкм <sup>2</sup>	Діаметр капілярів, мкм
Контроль	12,08 ± 1,83	73,28 ± 16,26	5,52 ± 1,21
Д-1	12,01 ± 1,6	72,22 ± 14,13	6,98 ± 2,97*
5-ФУ	11,72 ± 1,66	73,24 ± 16,52	6,05 ± 1,33*

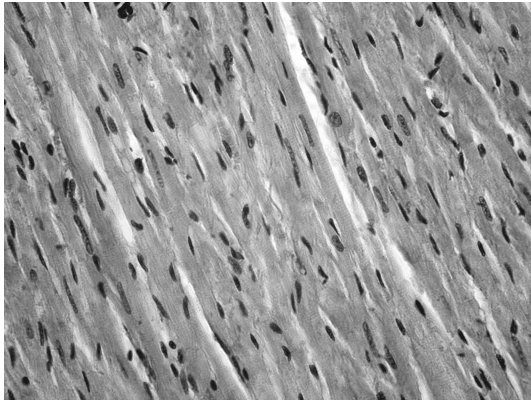
\*Різниця статистично вірогідна порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

Таблиця 2. Морфометричні параметри міокарда щурів під впливом Д-1, СоСl<sub>2</sub>-індукованого оксидативного стресу та їх сумісної дії

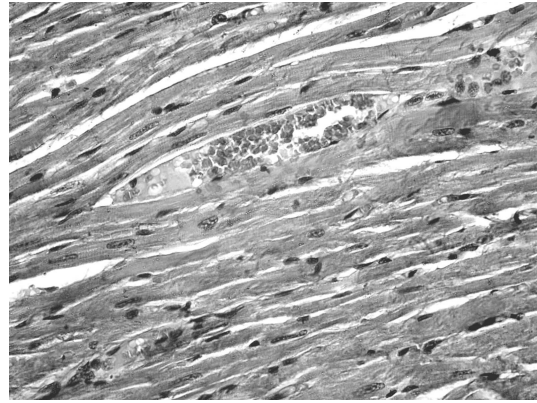
Експериментальна група	Товщина КМЦ, мкм	Площа ядер КМЦ, мкм <sup>2</sup>	Діаметр капілярів, мкм
Контроль	12,08 ± 1,83	73,28 ± 16,26	5,52 ± 1,21
Д-1	12,01 ± 1,6	72,22 ± 14,13	6,98 ± 2,97*
СоСl <sub>2</sub>	11,43 ± 1,53*	68,31 ± 14,07*	7,04 ± 2,23*
СоСl <sub>2</sub> +Д-1	12,72 ± 1,82**	70,98 ± 14,83	7,47 ± 2,74*

\* Різниця статистично вірогідна порівняно з контролем ( $p \leq 0,05$ ).

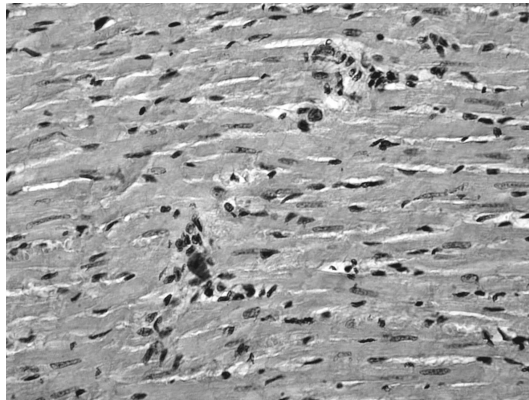
\*\*Різниця статистично вірогідна порівняно з групою СоСl<sub>2</sub> ( $p \leq 0,05$ ).



а



б



в

Рис. 1. Мікрофотографії міокарда щурів контрольної групи (а) і груп, що отримували Д-1 (б) та 5-ФУ (в). Гематоксилін-еозин. Зб. 600

слабко. Форма та розміщення ядер типові, проте їх площа зменшується на 6,8% порівняно з контрольною групою (див. табл. 2). Спостерігається збільшення кровонаповнення капілярів, іноді помітно еритродіapedез. Діаметр капілярів зростає на 27,5%. Відмічається навколосудинний набряк. У стінці судин помітно деструктивні зміни, вона значно інфільтрована лімфоцитами. Про запалення та функціональну напругу органа свідчить також збільшення кількості лімфоцитів, макрофагів, тучних клітин у міжм'язових проміжках.

У групі щурів, що сумісно отримували  $\text{CoCl}_2$  та Д-1, розміщення і форма м'язових волокон не змінюються. Помітна поперечна посмугованість КМЦ. Їх товщина збільшується порівняно як із контролем (на 5,3%), так і з індивідуальним впливом  $\text{CoCl}_2$  (на 11,3%). Площа ядер займає проміжне положення між значеннями груп, що отримували окремо  $\text{CoCl}_2$  та Д-1 і не відрізняється вірогідно від контролю (див. табл. 2). Для сумісної дії сполук характерне нерівномірне кровонаповнення капілярів, що спостерігалось при їх окремій дії. Капіляри розширені та нерівномірно кровонаповнені, їх діаметр зростає на 35,3% порівняно з контролем. Стінки судин великого і середнього діаметра потовщені. Навколо судин невеликого діаметра зберігаються ознаки периваскулярного запалення — спостерігаються інфільтрати, що складаються з лімфоцитів, макрофагів та тучних клітин (рис. 2). Зазначимо, що інший інгібітор тирозинкіназ похідне малеїміду МІ-1 викликає активацію

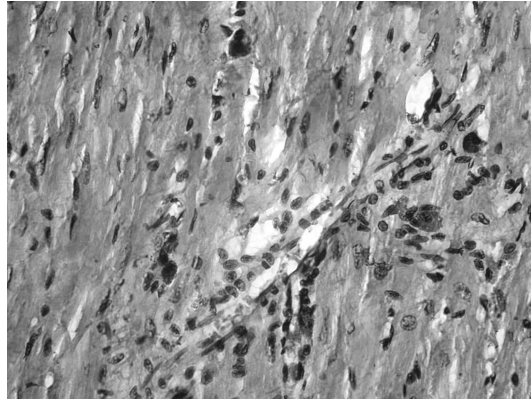


Рис. 2. Ознаки периваскулярного запалення при сумісній дії хлориду кобальту та Д-1. Гематоксилін-еозин. Зб. 600

синтетичних процесів у кардіоміоцитах та подібні зміни в судинному руслі серця за умов тривалого застосування [7].

Таким чином, дія Д-1 на кровонаповнення міокарда щурів перевищує вплив 5-ФУ. Д-1 частково усуває негативні наслідки впливу оксидативного стресу на КМЦ, однак токсична дія новосинтезованої сполуки на капілярне русло виявляється на рівні впливу кобальтіндукованого оксидативного стресу. Деяка гіпертрофія кардіоміоцитів за умов дії Д-1 на фоні оксидативного стресу свідчить про мобілізацію синтетичного потенціалу клітин серця під впливом Д-1, що може бути позитивним в умовах порушення прооксидантно-оксидантної рівноваги при канцерогенезі.

1. *Arias J. L.* Drug targeting strategies in cancer treatment: an overview // *Mini Rev. Med. Chem.* – 2011. – **11**, No 1. – P. 1–17.
2. *Дубініна Г. Г., Воловенко Ю. М.* Сполука 1,4-заміщених 5-аміно-1,2-дигідропірол-3-онів, що має протиракову активність // Патент № 22204 UA від 25.04.2007.
3. *Кузнецова Г. М., Островська Г. В., Рыбальченко В. К.* Порівняння впливу цитостатичних сполук похідного дигідропіролу і 5-фторурацилу на слизову оболонку кишечника щурів // *Соврем. проблемы токсикологии.* – 2011. – № 1–2. – С. 47–51.
4. *Кузнецова Г. М., Островська Г. В., Воловенко Ю. М., Воловченко Т. А., Рыбальченко В. К.* Вплив цитостатичної сполуки похідного дигідропіролу на слизову оболонку тонкого кишечника щурів за умов дії оксидативного стресу // *Проблеми екол. та мед. генетики і клініч. імунології.* – 2010. – Вип. 4 (100). – С. 270–279.
5. *Калиман П. А., Охрименко С. М.* Цикл глюкоза–жирные кислоты при оксидативном стрессе у крыс, вызванном хлоридом кобальта // *Укр. біохім. журн.* – 2005. – **77**, № 2. – С. 154–158.
6. *Яблонська С. В., Філінська О. М., Островська Г. В., Рыбальченко В. К.* Оцінка гепатотоксичності нового похідного малеїміду з цитостатичною активністю і його вплив на перекисне окислення та антиоксидантну систему печінки // *Укр. біохім. журн.* – 2009. – **81**, № 3. – С. 83–92.
7. *Харчук І. В., Рыбальченко В. К.* Реакція міокарда щурів на тривалий вплив похідного малеїміду – потенційного протипухлинного засобу // *Вісн. проблем біології і медицини.* – 2011. – **2**, вип. 2. – С. 282–285.

И. В. Харчук, О. А. Столяр, Г. В. Островская, В. К. Рыбальченко

**Сравнение состояния миокарда под влиянием нового  
цитостатического соединения производного дигидропиррола  
и 5-фторурацила**

*Производное 1,2-дигидропиррола (Д-1) превышает влияние 5-фторурацила на кровенаполнение миокарда, увеличивая диаметр капилляров. Д-1 частично устраняет негативные последствия влияния оксидативного стресса на сердечную мышцу. Некоторая гипертрофия кардиомиоцитов в условиях действия Д-1 на фоне оксидативного стресса свидетельствует о мобилизации синтетического потенциала клеток сердца под влиянием данного соединения, что может быть положительным моментом в условиях нарушения прооксидантно-оксидантного равновесия при канцерогенезе.*

I. V. Kharchuk, O. A. Stoliar, G. V. Ostrovska, V. K. Rybalchenko

**Comparison of myocardium status under the influence of novel  
cytostatic compound dihydropyrrole derivate and 5-fluorouracil**

*The 1,2-dihydropyrrole (D-1) derivate exceeds the influence of 5-fluorouracil on myocardium blood supply increasing the capillarity diameters. The D-1 derivate partially prevents negative effects of oxidative stress on rat's myocardium. Some hypertrophy of cardiomyocytes under the influence of D-1 in oxidative stress provides the evidence of the synthetic potential mobilization in cardiac cells that may be useful in pro-oxidant-antioxidant disorders under carcinogenesis conditions.*