

І. В. Харчук, Н. О. Карпезо, Г. В. Островська, Т. В. Рибальченко,  
В. К. Рибальченко

## Особливості морфофункціонального стану нирок під впливом різних доз та тривалості дії потенційного цитостатика похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4- (CF<sub>3</sub>-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону

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

*Виявлено особливості впливу нового похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF<sub>3</sub>-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону (MI-1) на нирки щурів. Встановлено, що MI-1 викликає пригнічення функціональної активності гломерулярного і тубулярного апарату нефронів кіркового шару нирок, не однаково при дії різних доз і тривалості впливу. Відмічено різну реакцію судинного русла і відмінності локалізації осередків запалення в інтерстиції. MI-1 у більшій дозі викликає істотніші зміни у нирках, незважаючи на короткий термін його дії.*

У безперервному пошуку протипухлинних лікарських засобів цільової дії з низькою токсичністю і мінімальними побічними ефектами останнім часом увагу привертають похідні малеїміду [1]. Новосинтезоване похідне малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF<sub>3</sub>-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діон (MI-1) інгібує низку протеїназ, яким належить провідна роль у процесах проліферації і росту клітин за умов канцерогенезу. MI-1 у концентрації 10<sup>-6</sup>–10<sup>-4</sup> моль/л справляє цитостатичний ефект на лініях злоякісних та трансформованих клітин людини [2, 3]. У той же час ушкоджуючий вплив MI-1 на швидкопроліферувальні тканини, наприклад гермінативний епітелій сім'яників щурів, незначний [4].

Гепатонекротоксичність лежить в основі побічних ефектів лікарських засобів, тому важливою умовою для перспективності потенційного лікарського засобу є низька токсичність по відношенню до нирок і печінки [5, 6]. Зміни, що відбуваються в печінці після впливу MI-1, можна класифікувати як пригнічення клітинних процесів і функціональне напруження органа [3, 7]. Морфофункціональний стан нирок під дією нового похідного малеїміду залишається недослідженим, тому метою проведеного нами дослідження було виявлення особливостей впливу різних доз та тривалості дії цього потенційного лікувального засобу.

На 24 нелінійних білих щурах-самцях масою 180–200 г було проведено дві серії експериментів: тривалістю 10 та 30 діб. MI-1 вводили інтрагастрально в 0,1 мл олії щодоби: у першій серії експериментів у дозі 5 мг/кг (1/100 LD<sub>50</sub>), у другій — 2,7 мг/кг, що за умови повного всмоктування відповідає концентрації в крові 10<sup>-4</sup> моль/л і може розглядатися як терапевтична доза. Контрольні тварини отримували 0,1 мл олії інтрагастрально. Для морфологічних досліджень проводили стандартну гістологічну обробку: зрізи нирок завтовшки 5–7 мкм забарвлювали гематоксиліном Б'ємера з дофарбуванням еозином та оранжем G. Стан нирок визначали, базуючись на візуальному аналізі препаратів та морфометричних вимірах, які проводили за допомогою світлового мікроскопа Olympus BX-41 та

програми Image J. У кортикомедулярній зоні кіркового шару нирок вимірювали площу капсул Шумлянського–Боумена, площу судинних клубочків, висоту епітелію проксимальних та дистальних каналців нефронів, а також площу ядер епітеліоцитів, що утворюють стінки проксимальних та дистальних каналців. Статистичну обробку даних проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента. Для відповідних розрахунків використовували стандартний пакет програм статистичного аналізу Microsoft Excel 97.

За результатами дослідження встановлено, що вплив МІ-1 в дозі 5 мг/кг протягом 10 діб призводить до помітних морфофункціональних змін нефронів кіркової зони нирок щурів. У гломерулярному апараті відмічається зменшення площі поперечного перетину капсул Шумлянського–Боумена на 14% (табл. 1). Судинні клубочки більшості ниркових тілець втрачають сферичну форму, ущільнюються, площа їх поперечного перетину зменшується на 9% порівняно з контролем (див. табл. 1). Капілярні петлі більшості клубочків майже не містять формених елементів крові і спадаються. Для інших кровоносних судин кіркового шару нирок характерним є малокрів'я. У тубулярному апараті змінені каналці локалізовані дифузно серед таких, що зберігають нормальну будову. Просвіт частини проксимальних ниркових каналців розширений і висота епітелію зменшується на 9% (табл. 2). У самотніх каналцях відбувається десквамація щіткової облямівки, а також вакуолізація цитоплазми з подальшим її руйнуванням. Такі ознаки білкової дистрофії епітелію проксимальних каналців можуть бути відображенням як підвищеної проникності гломерулярного фільтра для білка, так і резорбційної недостатності вакуолярно-лізосомальної системи епітеліоцитів [8]. Розмір округлих або овальних ядер істотно не відрізняється від контролю (див. табл. 2). Дистальні каналці зазнають більших змін порівняно з проксимальними. Їх просвіт значно розширений, вони розтягнені, а клітини епітеліального шару та їх ядра сплюснені. Висота епітелію дистальних каналців зменшується на 23, 6% (див. табл. 2), а площа ядер епітеліоцитів, що їх утворюють, — на 5,5 %. Місцями спостерігається поруше-

Таблиця 1. Вплив МІ-1 на гломерулярний апарат нефронів кортикомедулярної зони кіркового шару нирок щурів,  $M \pm m$

Серія досліджу	Термін дії, діб	Площа, мкм	
		капсул Шумлянського–Боумена	судинних клубочків
Контроль	10	6403,33 ± 102,17	4565,86 ± 72,94
МІ-1, 5 мг/кг	10	5516,47 ± 124,1*	4161,78 ± 60,67*
Контроль	30	6525,91 ± 145,82	4692,3 ± 60,0
МІ-1, 2,7 мг/кг	30	6431,97 ± 230,39	4207,4 ± 36,0*

\*Різниця вірогідна між дослідом і контролем при  $P \leq 0,05$ .

Таблиця 2. Вплив МІ-1 на епітелій проксимальних і дистальних каналців у кортикомедулярній зоні кіркового шару нирок щурів,  $M \pm m$

Серія досліджу	Термін дії, діб	Проксимальні каналці		Дистальні каналці	
		Висота епітелію, мкм	Площа ядер, мкм <sup>2</sup>	Висота епітелію, мкм	Площа ядер, мкм <sup>2</sup>
Контроль	10	14,84 ± 0,06	26,87 ± 0,86	8,55 ± 0,03	24,91 ± 0,31
МІ-1, 5 мг/кг	10	13,50 ± 0,27*	25,55 ± 0,48	6,53 ± 0,1*	23,53 ± 0,28*
Контроль	30	15,06 ± 0,24	27,99 ± 0,42	8,70 ± 0,12	25,36 ± 0,33
МІ-1, 2,7 мг/кг	30	12,75 ± 0,67*	28,19 ± 0,41	8,14 ± 0,12*	23,83 ± 0,54*

\*Різниця вірогідна між дослідом і контролем при  $P \leq 0,05$ .

ння цілісності клітинної мембрани, десквамація епітелію та оголення базальної мембрани. У паренхімі серед каналців є незначні скупчення лімфоїдної тканини, що вказує на початкові етапи запальних процесів.

Після 30-добового впливу МІ-1 у дозі 2,7 мг/кг гломерулярний апарат нирок зазнає менших змін порівняно з такими у попередній серії експериментів. Незважаючи на те що в поодиноких капсулах Шумлянського–Боумена просвіт між вісцеральним і парієнтальним листками помітно збільшується, достовірної різниці між розмірами капсул у контрольній та дослідній серіях немає (див. табл. 1). З'являються окремі та розміщені групами судинні клубочки меншого розміру, які відзначаються спаданням капілярів. Площа судинних клубочків зменшується на 10,3% (див. табл. 1). Зміни в тубулярному апараті подібні до змін, що викликає МІ-1 у попередній серії експериментів. Просвіт більшості проксимальних каналців збільшується. Епітеліоцити цих каналців мають вакуолізовану цитоплазму та десквамовану щіткову облямівку. Висота епітелію проксимального відділу нефрону зменшується на 15,3%. Просвіт дистальних каналців також збільшується, епітеліальні стінки їх сплющуються. Висота епітелію дистального відділу зменшується на 6,4% порівняно з контролем, а площа ядер епітеліоцитів — на 6% (див. табл. 2). Апікальна частина деяких клітин епітелію дистальних каналців зруйнована. В окремих ділянках кіркового шару клітинні ядра епітеліоцитів як проксимальних, так і дистальних каналців набувають полігональної форми, стають гіперхромними. Як і при 10-добовій дії МІ-1 у дозі 5 мг/кг, площі ядер епітеліоцитів проксимальних каналців не змінюються (див. табл. 2).

Морфологічні зміни в інтерстиції нирок проявляються незначним набряком та лімфоїдною інфільтрацією переважно навколосудинних ділянок. В судинах мікроциркуляторного русла при дії МІ-1 відмічається повнокрів'я та стаз крові. Крім того, розширюються лімфатичні судини і з'являються лімфатичні лакуни, що є ознакою порушення нормального відтоку рідини в органі.

Виявлені морфологічно-функціональні зміни в нирках щурів вказують на нефротоксичність МІ-1. У гломерулярному апараті нефронів кіркової зони препарат викликає зменшення площі судинних клубочків, у більшій дозі він впливає також на розміри капсул Шумлянського–Боумена. У тубулярному апараті за дії МІ-1 відбуваються дистрофічні зміни епітелію проксимальних і дистальних каналців нефронів. Більшого ушкодження зазнають дистальні каналці. Деструктивні зміни в їх епітелії можуть бути пов'язані з більшою чутливістю його клітин до гіпоксії внаслідок гемодинамічних розладів. Зміни в дистальних каналцях істотніші після 10-добового впливу МІ-1 у дозі 5 мг/кг. Особливістю реакції мікроциркуляторного русла за цих умов є зменшення кровонаповнення судин кортикального кола кровообігу і судинних клубочків. МІ-1 викликає також запалення в інтерстиціальній тканині нирок. При 10-добовому впливі МІ-1 характерним є незначне скупчення лімфоїдних інфільтратів між каналцями, при 30-добовому впливі відзначається локалізація інфільтратів переважно у навколосудинних ділянках і, крім того, порушення лімфодренажу.

Отримані дані свідчать про те, що МІ-1 викликає пригнічення функціональної активності гломерулярного і тубулярного апарату нефронів кіркового шару нирок, а також порушення гемодинаміки органу. Відмінністю реакції кровоносної системи є зменшення кровонаповнення судин мікроциркуляторного русла після 10-добового впливу МІ-1 у дозі 5 мг/кг та повнокрів'я і стаза крові після 30-добового впливу МІ-1 у дозі 2,7 мг/кг. Відмічено також різну локалізацію осередків запалення в інтерстиції. Отже, МІ-1 у більшій дозі викликає більш істотні зміни у нирках, незважаючи на короткий термін його дії.

1. *Jaye M. C., Krawiec J. A., Campobasso N.* Discovery of substituted maleimides as liver X receptor agonists and determination of a ligand-bound crystal structure // *J. Med. Chem.* – 2005. – **48**. – P. 5419–5422.
2. *Дубініна Г. Г., Головач С. М., Козловський В. О. та ін.* Антипроліферативна дія нових похідних 1-(4-R-бензил)-3-R1-4-(R2-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону // *Журн. орган. та фарм. хімії.* – 2007. – **5**, № 1. – С. 39–49.
3. *Yablonska S., Filinska O., Ostrovska G., Linchack O., Dubinina G., Nizheradze K., Rybalchenko V.* Anti-proliferative properties and low hepatotoxicity of new cytostatic maleimide derivate // *Biochemistry of cell regulation: 33rd FEBS Congress and 11th IUBMB Conference.* – Athens, Greece, 2008. – P. 348.
4. *Харчук І. В., Карпезо Н. О., Островська Г. В., Рибальченко Т. В., Линчак О. В., Цивінська С. М., Рибальченко В. К.* Морфо-функціональні зміни в сім'яниках щурів під впливом нового антинеопластичного препарату, похідного малеїміду // *Соврем. пробл. токсикологии.* – 2008. – № 1. – С. 61–65.
5. *Зими́на Л. Н., Галкина Г. С.* Лекарственная гепатонефропатия // *Архив патологии.* – 1988. – **50**, вып. 5. – С. 58–65.
6. *Таран О. Г.* Цитостатики в клінічній нефрологічній практиці // *Журн. практ. лікаря.* – 2008. – № 1. – С. 6–9.
7. *Линчак О. В., Харчук І. В., Островська Г. В., Карпезо Н. О., Рибальченко В. К.* Дослідження впливу похідного малеїміду 1-(4-Cl-бензил)-3-хлор-4-(CF<sub>3</sub>-феніламіно)-1H-пірол-2, 5-діону на морфологічний стан печінки // *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології: Зб. наук. праць.* – Київ; Луганськ; Харків, 2007. – Вип. 3–4 (78–79). – С. 34–39.
8. *Серов В. В., Варшавський В. А., Ковтун Т. И., Куприянова Л. А.* Морфогенез дистрофии нефроцитов // *Архив патологии.* – 1983. – Вып. 1. – С. 25–33.

*Київський національний університет  
ім. Тараса Шевченка*

*Надійшло до редакції 13.02.2009*

**I. V. Kharchuk, N. O. Karpezo, G. V. Ostrovska, T. V. Rybalchenko,  
V. K. Rybalchenko**

**Peculiarities of a morphofunctional kidney status under the influence of different doses and exposure times of the potential cytostatic agent maleimide derivative 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF<sub>3</sub>-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dion**

*Peculiarities of the influence of a new maleimide derivative on rat's kidney are ascertained. The obtained data indicate that the maleimide derivative causes a functional depression of the glomerular and tubular nephron apparatus of kidney cortical zone that is not equal under the different doses and exposure times. Different reactions of vascular systems and the localization of focal inflammation in intersticium are observed. A larger dose of the maleimide derivative provokes more substantial changes in kidney, in spite of its shorter exposure time.*