

Національна академія наук України
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки
Національної академії наук України»

КУЗНЄЦОВА ГАЛИНА МИКОЛАЇВНА



УДК 57.044:[616.34+616.36]:[612.33+612.35]

**ВПЛИВ НЕСПЕЦИФІЧНИХ ІНГІБІТОРІВ РЕЦЕПТОРІВ РОСТОВИХ
ФАКТОРІВ НА ВІСЬ ЗАПАЛЕННЯ-ФІБРОЗ-КАНЦЕРОГЕНЕЗ (на
прикладі органів травлення)**

03.00.11 - цитологія, клітинна біологія, гістологія

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора біологічних наук

Київ 2021

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ННЦ «Інститут біології та медицини» та Інституті високих технологій Київського національного університету імені Тараса Шевченка

Науковий консультант: доктор біологічних наук, професор, Заслужений діяч науки і техніки України

Рибальченко Володимир Корнійович,
Київський національний університет імені Тараса Шевченка, головний науковий співробітник Інституту високих технологій

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор, член-кореспондент НАМН України

Чайковський Юрій Богданович,
Національний медичний університет імені О.О. Богомольця МОЗ України, завідувач кафедри гістології та ембріології

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

Пушкарьов Володимир Михайлович,
ДУ «Інститут ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка НАМН України», головний науковий співробітник відділу фундаментальних та прикладних проблем ендокринології

доктор біологічних наук, старший науковий співробітник

Бурлака Анатолій Павлович,
Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України, провідний науковий співробітник лабораторії проблем метастатичного мікрооточення

Захист дисертації відбудеться 22 грудня 2021 року об 11 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д26.254.01 ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а. Тел/факс: (044) 463 05 32, e-mail: d26.254.01@ukr.net

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: 04123, м. Київ, вул. Осиповського, 2а та на сайті <http://ifbg.org.ua/uk/pidgotovka-kadriv/specializovana-vchena-rada>

Автореферат розіслано 20 листопада 2021 року

Вчений секретар спеціалізованої вченої ради,
к.б.н., доц.

 Н.Л. Пастухова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми досліджень. Запалення – визнаний симптом багатьох захворювань – забезпечує захист організму від патогенів і власних зруйнованих клітин та регулюється розчинними медіаторами, що включають цитокіни, хемокіни, фактори росту та вільні радикали кисню і азоту. Якщо запалення стає хронічним – ці фактори призводять до конститутивної активації прозапальних та проліферативних сигнальних шляхів, що, разом з пошкодженням клітинних елементів, клітин і тканин, веде до розвитку численних захворювань: аутоімунних, серцево-судинних та раку (Hunter, 2012; Furman, 2019; Singh, 2019). Яскравим прикладом чіткої асоціації хронічного запалення та канцерогенезу є розвиток колоректального раку (КРР) на тлі тривалого перебігу запальних захворювань кишечника (ЗЗК) (Stidham, 2018; Kornbluth, 2010).

За умов хронічного ушкодження і, відповідно, запалення органів з високою регенераторною здатністю (органи шлунково-кишкового тракту), їх загоєння часто відбувається аномально – через заміщення ушкодженої частини сполучною тканиною. Разючим прикладом такої спотвореної регенерації є розвиток фіброзу та цирозу печінки на тлі її хронічного ушкодження. Клітини, залучені в реалізацію запалення, активно продукують розчинні фактори, які також сприяють фіброгенезу (Qiao, 2019; Rieder, 2017). Кінцевою стадією фіброзу є цироз органу – необоротне заміщення його значної частини сполучною тканиною, що призводить до зниження функції та важких наслідків аж до летальних. Так, смертність від цирозу печінки протягом 1 року після встановлення діагнозу варіює від 1 до 57%, залежно від стадії (Li, 2019) та сягає понад 1,2 млн смертей щорічно (Mattiuzzi, 2019).

«Фіброзне середовище» характеризується підвищеною «концентрацією» імунних та мезенхімальних проліферативно активних клітин та підвищеною продукцією прозапальних медіаторів і ростових факторів, що, поряд з постійною наявністю ушкоджуючих чинників, є вельми сприятливим мікрооточенням для ініціації та промоції злоякісної трансформації клітин (Elsharkawy, 2007; Rieder, 2017). Тому очевидним є факт підвищеного ризику розвитку злоякісних новоутворень на тлі фіброзу та цирозу (Mattiuzzi, 2019; Bishayee, 2014): наприклад, гепатоцелюлярна карцинома у 70-80% випадках розвивається на тлі цирозу печінки (Llovet, 2016).

Рецептори ростових факторів залучені у патогенез хронічного запалення через тісні взаємозв'язки їх сигнальних шляхів з основними прозапальними сигнальними шляхами (Kostenko, 2011; Hers, 2011; Neurath, 2011; Hayden, 2008), що пов'язано з «запуском» регенераторних процесів. Однак, незважаючи на встановлену роль цих рецепторів у патогенезі запалення та перспективність їх як мішеней протизапальної терапії (Elkamhawu, 2019; Lee, 2017), апробованих протизапальних засобів на основі їх інгібіторів наразі не існує. Надмірна активність зазначених сигнальних шляхів за хронічного запалення часто є причиною спотворення регенерації, що призводить до

фіброзу і/чи неоплазії тканин (Carmeliet, 2000; Szekanecz, 2004; Grivennikov, 2010). Так, порушена активність рецепторів ростових факторів, таких як рецептори епідермального фактору росту (EGFR), фактору росту судин (VEGFR), фібробластів (FGFR) та тромбоцитів (PDGFR), відіграє суттєву роль у розвитку захворювань печінки, що пов'язані з її фіброзним переродженням (Friedman, 2008), що свідчить на користь зазначених рецепторів як потенційних мішеней протифіброзної терапії (Qu, 2016).

Тобто, сигнальні шляхи прозапальної відповіді, проліферації та виживання клітин активуються за запалення, фіброзу та канцерогенезу. Ці шляхи активно «перекриваються» із сигнальними шляхами рецепторів ростових факторів. Таким чином, модулювання активності зазначених сигнальних шляхів, а, отже, вплив на процеси запалення, фіброзу та канцерогенезу, можливе шляхом впливу на сигналінг ростових факторів.

Рецептори ростових факторів з тирозин-кіназною активністю (РТК) внаслідок їх надзвичайно важливої ролі у пухлинному рості, зокрема, раку епітеліального походження, вже понад 20 років є мішенню протипухлинної терапії (Guadagni, 2007; DeVita, 2008; Gerber, 2008; Ettrich, 2018; Yang, 2019). Проте, незважаючи на їх суттєву роль у процесах хронічного запалення та фіброгенезу, медикаментозних засобів на основі інгібіторів зазначених рецепторів для терапії запалення та фіброзу не тільки не розроблено, а сама можливість їх застосування наразі обмежується лише академічними дослідженнями окремих нюансів цих патологій. Більш того, враховуючи встановлений причинно-наслідковий зв'язок фаз «хронічне запалення – фіброз – канцерогенез» (Elsharkawy, 2007; Bishayee, 2014; Rieder, 2017) та підвищену активацію рецепторів ростових факторів за усіх цих фаз (Friedman, 2008; Elkamhaw, 2019; Lee, 2017), логічним є припущення про можливість впливу одним засобом – інгібітором РТК – на усі ці стадії одночасно. Обґрунтування такої можливості, по-перше, відкриє новий шлях до розробки «ранньої» терапії злоякісних новоутворень, розпочатої за передракового стану, що не буде потребувати обов'язкової верифікації неоплазії, а, по-друге, дозволить розробляти засоби, націлені на проміжні ланки, покликані лікувати незлоякісні захворювання, зокрема, печінки та товстої кишки, здійснюючи, в той же час, потужну профілактичну дію щодо онкогенезу. Крім того, прийняття концепції причинно-наслідкового зв'язку «хронічне запалення – фіброз – канцерогенез» щодо органів травного тракту може бути підґрунтям для розробки фундаментальної концепції канцерогенезу солідних органів з високою регенераторною здатністю.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота виконана у рамках науково-дослідних тем Київського національного університету імені Тараса Шевченка: «Механізми реалізації адаптаційно-компенсаторних реакцій організму за умов розвитку різних патологій» (№ ДР 0111U004648, 2011-2015 рр.); «Похідні піролу як протизапальні та протипухлинні сполуки нового покоління» (№ ДР 0116U002639, 2016-2017 рр.); «Біосумісні водорозчинні C60 фулерени як протифіброзні та

антинеопластичні засоби при злоякісних новоутвореннях печінки» (№ ДР 0118U000244, 2018-2020 рр.); «Новітні гібридні антипухлинні та протизапальні наноконплекси на основі піролів і С60 фулерену: створення, характеризування, фармакодинаміка і токсикологічна характеристика» (№ ДР 0119U100331, 2019-2021 рр.).

Мета і завдання дослідження.

Метою роботи був аналіз можливості і доцільності впливу неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів на прикладі немодифікованих С60 фулеренів та похідних піролу 1-(4-Сl-бензил)-3-Сl-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діону і 3-{[4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-3-іл]аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-С61-бутаноату на процеси запалення, фіброзу і канцерогенезу товстої кишки та печінки як послідовні ланки одного патологічного процесу.

Згідно мети, були сформульовані завдання дослідження:

1. Оцінити вплив похідних піролу 1-(4-Сl-бензил)-3-Сl-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (МІ-1) та 3-{[4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-3-іл]аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-С61-бутаноату (С60-МІ-3ОН) та водного розчину немодифікованих С60 фулеренів (С60FAS) на стан товстої кишки та печінки щурів за їх гострого запалення;
2. З'ясувати місцеві та системні ефекти похідних піролу та С60FAS за хронізації запального процесу;
3. Дослідити дію похідних піролу та С60FAS на початкові стадії фіброзного переродження печінки на моделях гострого та хронічного ураження жовчних проток;
4. Проаналізувати стан печінки щурів за тривалої дії С60FAS на тлі її фіброзу гепатоцелюлярного та біліарного походження;
5. Оцінити стан печінки щурів за дії С60FAS на тлі її цирозу різного походження;
6. Визначити місцеві та системні ефекти похідних піролу та С60FAS за злоякісного переродження тканин товстої кишки та печінки;
7. Оцінити можливість та стабільність зв'язування похідних піролу з АТФ-зв'язуючими сайтами рецепторів ростових факторів EGFR, VEGFR, FGFR та PDGFR;
8. Дослідити можливі механізми дії зазначених сполук, окрім блокування рецепторів ростових факторів, а саме антипроліферативну, проапоптичну, антиоксидантну активності;
9. Проаналізувати доцільність впливу інгібіторів рецепторів ростових факторів (на прикладі досліджених сполук) на процеси запалення, фіброзу та канцерогенезу як послідовні ланки одного патологічного процесу.

Об'єкт дослідження місцеві та системні ефекти немодифікованих С60 фулеренів та похідних піролу 1-(4-Сl-бензил)-3-Сl-4-(CF₃-феніламіно)-1Н-пірол-2,5-діон (МІ-1) і 3-{[4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1Н-пірол-3-іл]аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-С61-бутаноату (С60-МІ-3ОН) за гострого та хронічного запалення і раку товстої кишки, гострого та хронічного

запалення, фіброзу, цирозу і раку печінки, а також можливі механізми реалізації їх дії.

Предмет дослідження морфофункціональний стан печінки і товстої кишки щурів та загальний стан організму за гострого та хронічного запалення, фіброзу, цирозу і злоякісного переродження та впливу C60FAS і похідних піролу на їх тлі; стан нормальних та злоякісних клітин за їх культивування з похідними піролу та немодифікованими C60 фулеренами.

Методи дослідження. У роботі використані методи макроскопічного аналізу, фенолсульфоталеїновий тест, гістопатологічні, біохімічні, імуногістохімічні, гематологічні, молекулярного докінгу та молекулярної динаміки, культури клітин, МТТ-тест, проточної цитофлюорометрії для оцінки апоптозу, статистичного аналізу.

Наукова новизна одержаних результатів. Встановлена здатність досліджених сполук пригнічувати гостре (C60FAS, MI-1 та C60-MI-3OH) та хронічне (C60FAS та MI-1) запалення товстої кишки і печінки щурів (C60FAS та MI-1), фіброз (C60FAS, MI-1 та C60-MI-3OH) та цироз (C60FAS) печінки гепатоцелюлярного та біліарного походження, пригнічувати розвиток колоректальних пухлин (C60FAS, MI-1 та C60-MI-3OH), гепатоцелюлярної карциноми та холангіокарциноми (C60FAS), подовжувати термін життя тварин за раку печінки, а також сприяти поліпшенню загального стану щурів за модельованих патологій. З'ясовано, що MI-1 та C60FAS здатні пригнічувати проліферативну активність клітин гепатоцелюлярного походження (HepG2) та стимулювати їх апоптоз у концентраціях ≥ 1 і 10 мкг/мл, відповідно. Вперше показано, що похідне піролу C60-MI-3OH, як і вихідна сполука MI-1, здатні утворювати стабільні зв'язки з АТФ-зв'язуючим центром тирозинкіназ EGFR та VEGFR, на відміну від іншого «компонента» C60 фулерену, здатного стабільно зв'язуватися з EGFR та FGFR, тобто виступати в ролі мультикіназних інгібіторів. Інгібітор протеїнкіназ MI-1 реалізує свої ефекти в тому числі, виявляючи антиоксидантну активність, а потужний антиоксидант C60FAS – впливаючи на експресію низки білків, залучених у проліферацію, диференціацію та апоптоз клітин (p53, EGFR, пан-цитокератинів та віментину).

На прикладі сполук, що здатні блокувати EGFR, FGFR та VEGFR, надмірно активні за гострого та хронічного запалення, фіброзу, цирозу та раку печінки і товстої кишки, вперше обґрунтовано можливість і доцільність застосування мультикіназних інгібіторів рецепторів ростових факторів не тільки як протизапальних та протифіброзних сполук, а як універсальних засобів впливу на хронічне запалення, фіброз і канцерогенез як послідовні ланки одного патологічного процесу.

Практичне значення одержаних результатів.

Встановлена протизапальна, протифіброзна та протипухлинна активність C60 фулеренів та MI-1 може бути підґрунтям для створення на їх основі препаратів з цільовою протизапальною чи протифіброзною активністю, або ж комплексної дії, що можуть застосовуватися за раку товстої кишки і/чи

печінки та їх передракових станів (у вигляді ЗЗК і/чи фіброзу/цирозу печінки). Крім того, отримані результати можуть бути основою принципово нового підходу до застосування мультикіназних інгібіторів як універсальних засобів впливу на вісь «хронічне запалення – фіброз – канцерогенез» як один патологічний процес.

Результати досліджень впроваджені у навчальний процес кафедри цитології, гістології та біології розвитку ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського університету імені Тараса Шевченка (2020 р.) та увійшли до навчального посібника «Механізми клітинної диференціації» (Кузнєцова Г.М., Рибальченко Т.В., Держинський М.Е., Рибальченко В.К. К.: ВПЦ «Київський університет», 2019. – 399 с.)

Особистий внесок здобувача полягає у розробці концепції дисертаційного дослідження, підборі та аналізі літератури за темою роботи, плануванні та проведенні основних експериментальних досліджень, безпосередньому здійсненні макроскопічних, мікроскопічних та біохімічних досліджень, статистичній обробці, аналізі, інтерпретації та узагальненні отриманих даних. У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантові належить основний фактичний матеріал і творчий доробок. Усі наукові узагальнення, положення та висновки, викладені у дисертації, сформульовано автором особисто. Обговорення результатів у процесі підготовки публікацій та написання роботи здійснено спільно з науковим консультантом д.б.н., проф., Заслуженим діячем науки і техніки України Рибальченком В.К., за що автор висловлює щире подяку.

Похідні піролу були синтезовані к.х.н. Мілоховим Д.С. та к.х.н., доц. Хилю О.В. (хімічний факультет Київського національного університету імені Тараса Шевченка), C60FAS були люб'язно надані д.б.н., проф. Прилуцьким Ю.І. (ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка), математичне моделювання здійснене за участю к.б.н. Гурмача В.В., дослідження на культурах клітин проведені за участю к.б.н. Гергелюк Т.С. та к.б.н. Фінюк Н.С. (Інститут біології клітини, Львів, Україна), гематологічні дослідження – за участю д.б.н., ст.н.с. Белінської І.В. (ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка). Окремі результати спільних досліджень використано в дисертаціях на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук Єни М.С. «Морфо-функціональний стан товстої кишки щурів за умов впливу похідних піролу у нормі та при виразковому коліті» (2016 р.) та Черещук І.О. «Гістолого-біохімічні зміни печінки щурів під впливом похідного піролу та фулеренів C60 за умов хімічно-індукованого раку товстої кишки» (2021 р.).

Апробація результатів дисертації. Основні наукові положення дисертаційної роботи доповідались та обговорювались на наукових форумах: XI конференції молодих онкологів України за участю міжнародних спеціалістів «Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології» (Київ, Україна, 2012); UEG Basic Science Courses «Epithelial ion transport in the

GI tract» (Сегед, Угорщина, 2012) and «Hot topics in experimental GI cancer» (Мюнхен, Німеччина, 2014); The 1-st Multidisciplinary Symposium «Molecular Oncology: From Laboratory Bench to Medicine» (Київ, Україна, 2012); XIV Конгрес Світової федерації українських лікарських товариств (Донецьк, Україна, 2012); VI та VII Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і при патології» (Київ, Україна, 2012 та 2014); Asian Pacific Digestive Week (Бангкок, Тайланд, 2012; Шанхай, Китай, 2013) Научно-практическая конференция «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения» (Новий Світ, АР Крим, Україна, 2013); I International Scientific Conference of students and PhD Students Cell Technology Week 2013 (Київ, Україна, 2013); 15th, 16th, 19th and 22nd ESMO World Congress of Gastrointestinal Cancer (Барселона, Іспанія, 2013, 2014, 2017, 2020); X Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, Україна, 2014); 12th Cancer Immunotherapy Meeting (Майнц, Німеччина, 2014); 4th Ukrainian Congress for Cell Biology (Ужгород, Україна, 2014); XI Український біохімічний конгрес (Київ, Україна, 2014); XIX з'їзд Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю (Київ, Україна, 2014); 22nd, 25th and 27th United European Gastroenterology Week (Відень, Австрія, 2014; Барселона, Іспанія, 2017 та 2019); науково-практична конференція «Мультипробіотики в профілактиці та лікуванні найбільш поширених захворювань» (Київ, Україна, 2015); Науково-практична конференція «Мінімальна залишкова хвороба при солідних пухлинах» (Київ, Україна, 2015); Advances in Inflammatory Bowel Diseases (Орландо, США, 2015); International research and practice conference: Nanotechnology and Nanomaterials (NANO) (Чернівці, Україна, 2017; Київ, Україна, 2018; Львів, Україна, 2020); Safety Pharmacology Annual Meeting (Берлін, Німеччина, 2017); 3 Ukrainian-French School-Seminar «Carbon Nanomaterials Structure and Properties» (Київ, Україна, 2017); 12th ILCA Annual Conference (Лондон, Великобританія, 2018); 27th and 28th Annual Conference of Asian Pacific Association for the Study of the Liver (Нью-Делі, Індія, 2018; Маніла, Філіпіни, 2019).

Публікації. За результатами дисертації опубліковано 67 наукових праць, із них 29 статей, з яких 16 – у фахових наукових виданнях України (в тому числі 3 – у виданнях, включених до міжнародної наукометричної бази SCOPUS), 13 – в іноземних виданнях (в тому числі 12 – у виданнях, включених до баз SCOPUS та Web of Science); 1 розділ монографії (опублікованої офіційною мовою Європейського Союзу в провідному міжнародному видавництві); 5 патентів на винахід та корисну модель; 32 тез доповідей у матеріалах вітчизняних та міжнародних наукових конференцій і з'їздів.

Структура дисертації. Дисертаційна робота містить вступ, огляд літератури, розділ з описом матеріалів і методів досліджень, 6 розділів власних експериментальних досліджень, розділ аналіз та обговорення, розділ узагальнення результатів, висновки, список використаних джерел (345

найменувань, у тому числі 38 кирилицею та 307 – латиницею). Дисертація викладена на 324 сторінках, ілюстрована 59 рисунками і 33 таблицями.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи досліджень. Дослідження *in vivo* проводили на 784 білих нелінійних щурах обох статей, яких утримували в умовах віварію за природного освітлення на стандартному харчовому раціоні з вільним доступом до питної води. Всі роботи проведені відповідно до принципів біоетики, законодавчих норм та положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та наукових цілей» (Страсбург, 1986), «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом біоетики (Київ, 2001).

Гостре та хронічне запалення товстої кишки (гострий та хронічний коліт) моделювали ректальним введенням 0,5 мл 10% розчину оцтової кислоти одноразово чи щотижнево протягом 2-5 тижнів, відповідно (Fitzpatrick, 1990). Оцінювали ефекти MI-1 (2,7 мг/кг), C0FAS (0,5 мг/кг) та C60-MI-3OH (0,2 мг/кг, 1,0 мг/кг та 5,0 мг/кг) за гострого коліту при пероральному (po), інтраперитонеальному (ip) та ректальному (pr) введеннях (через 5, 24 та 48 год після індукції патології), а також MI-1 (2,7 мг/кг, po, щоденно), C0FAS (0,5 мг/кг, ip, через день) та препарат порівняння преднізолон (0,7 мг/кг, ip) за хронічного коліту. Проникність слизової оболонки товстої кишки оцінювали за допомогою фенолсульфоталеїнового тесту (Hada, 2010). Стан слизової оболонки оцінювали макроскопічно (за 10-бальною шкалою (Sehirli, 2009)) та на світлооптичному рівні на препаратах, забарвлених гематоксилін-еозином (H&E) (за 14-бальною шкалою з модифікаціями, згідно (Appleyard, 1995)).

Гостре та хронічне запалення печінки відтворювали одноразовим чи 4-ма щотижневими введеннями ацетамінофену (APAP, 1000 мг/кг), відповідно (Wojnarova, 2015). C60FAS (0,5 мг/кг, ip та po), MI-1 (2,7 мг/кг, po) та преднізолон (0,7 мг/кг, ip) вводили через 5 та 24 год після введення APAP за гострого досліджу, та щоденно за хронічного.

Моделі гострого та хронічного холангіту як початкових стадій ураження та фіброзного переродження жовчних проток відтворювали введенням а-нафтилізотіоціанату (ANIT, 100 мг/кг) одноразово чи щотижнево протягом 4 тижнів, відповідно (Fickert, 2014; Bothe, 2017). C60FAS (0,5 мг/кг, ip та po), MI-1 (2,7 мг/кг, po) та C60-MI-3OH (5,0 мг/кг, 1,0 мг/кг, 0,2 мг/кг, po) вводили через 24 та 48 год після введення ANIT у гострому досліді, та щоденно (C60FAS та MI-1) – у хронічному.

Фіброз та канцерогенез печінки відтворювали за допомогою моделей гепатоцелюлярної карциноми (HCC) та холангіокарциноми (CCA). HCC моделювали одноразовим N-диетил-нітрозозаміну (DEN, 200 мг/кг), через 2 тижні для стимулювання розвитку пухлин починали вводити CCl₄ (1 мл/кг), двічі на тиждень упродовж 20 тижнів (Ding, 2017; Mansour, 2016). CCA моделювали щоденним введенням тіоацетаміду (TAA, 50 мг/кг, po) протягом 22 тижнів (Yeh, 2004). Оцінювали вплив C60FAS на розвиток ключових стадій

ССА та НСС: розвитку фіброзу, проліферації, метаблазії та дисплазії жовчних проток (10 тижнів), ініціації злоякісного переродження клітин (15 тижнів), сформованого раку печінки (22 тижні). С60FAS (0,25 мг/кг, ір, щоденно) вводили на наступний день після введення ТАА (ССА модель), або починаючи через 2 тижні після введення DEN (НСС модель), протягом 8 і 13 (НСС модель) чи 10 і 15 (ССА модель) тижнів для вивчення його впливу на розвиток фіброзу та цирозу печінки. Для оцінки впливу С60 фулеренів на розвиток пухлин зі злоякісно перероджених тканин С60FAS вводили після 15 тижнів з моменту індукції НСС та ССА до кінця дослідів (протягом 7 тижнів). Крім того, була сформована група, що отримувала С60FAS протягом усього періоду розвитку ССА (22 тижні). Як препарат порівняння використовували 5-фторурацил (5ФУ, 15 мг/кг, ір, щотижнево протягом останніх 7 тижнів дослідів) (Ray, 2017; Hu, 2016). Стан печінки оцінювали макроскопічно за 13-бальною шкалою (Liu, 2013). На мікроскопічному рівні (забарвлення Н&Е) оцінювали загальний стан печінкової тканини: типовість/атиповість гістологічної структури тканини, форми та будови клітин, забарвлення (свідчення можливих дистрофічних змін), рівень запального процесу (інфільтрація лейкоцитами стромы та епітелію тканин), фіброзу (розвиток сполучної тканини, заміщення нею паренхіми органів), стан судинного русла. Індекси гістологічної активності (рівень некрозу та запалення) та фіброзу визначали за шкалами Ishak (Goodman, 2007; Ishak, 1995; Shiha, 2011).

Рак товстої кишки моделювали відповідно до (Perse, 2005): тваринам вводили 1,2-диметилгідразин (ДМГ, 20 мг/кг, підшкірно, щотижнево) протягом 20 тижнів (поява перших видимих пухлин у низхідній ободовій кишці), розвиток пухлин тривав ще 7 тижнів, протягом яких щоденно вводили MI-1 (2.7 мг/кг, ро), С60FAS (0.25 мг/кг, ір) та С60-MI-3ОН (1.0 мг/кг; 0.2 мг/кг; 0.04 мг/кг, ір). Препарат порівняння 5ФУ (15 мг/кг, ір) вводили щотижнево (McQuade, 2017). Підраховували кількість пухлин на 1 тварину, їх середню площу та загальну площу пухлинного ураження.

Функціональний стан печінки, підшлункової залози та нирок за модельованих патологій оцінювали за сироватковими макрерами - активностями ферментів аланін-аміотрансферази (ALT), аспартат-аміотрансферази (AST), лужної фосфатази (ALP), лактат-дегідрогенази (LDH), гамма-глутаміл-трансферази (GGT), α -амілази, ліпази, вмістом загального білка, прямого (зв'язаного, CBIL) і непрямого (незв'язаного, UBIL) білірубину, тригліцеридів, сечовини та креатиніну за допомогою стандартних наборів реактивів («Філісіт-Діагностика», Україна, «Diagnosticum Zrt», Угорщина) спектрофотометрично.

Аналіз окисно-відновного стану печінки, слизової оболонки товстої кишки та клітин НерG2 оцінювали за рівнями малонового діальдегіду (MDA), карбонільних груп білків (PCG) та відновленого глутатіону (GSH), активностями внутрішньоклітинної супероксиддисмутази (SOD), каталази (CAT), глутатіон-S-трансферази (GST) та глутатіон-пероксидази (GP) у гомогенатах після осадження ядер та мітохондрій. Рівень MDA оцінювали за

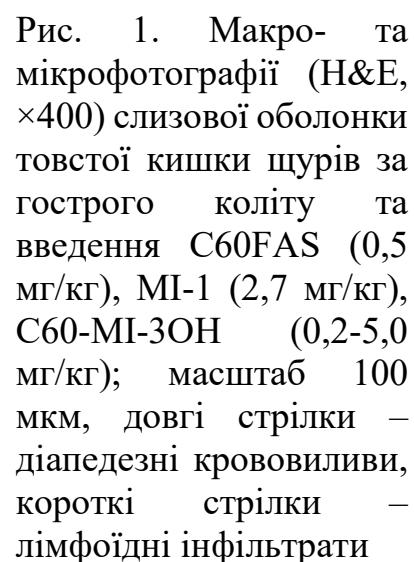
реакцією з тіобарбітуровою кислотою (Tukozkan, 2006); вміст PCG оцінювали за реакцією окиснених амінокислотних залишків з 2,4-динітрофенілгідразином (Weber, 2015); рівень GSH оцінювали, базуючись на його здатності окислюватися 5,5'-дитіобіс-2-нітробензойною кислотою з утворенням GSSG та 5-тіо-2-нітробензойної кислоти (Tipple 2012); ефективність SOD оцінювали за її здатністю пригнічувати відновлення нітросинього тетразолію рибофлавіном (Salbitani, 2015); активність CAT оцінювали за реакцією H_2O_2 з солями молібдену (Goth, 1991); активність GP оцінювали шляхом визначення кількості GSH, що не прореагував, після його додавання до реакційної суміші та інкубації з t-бутил гідропероксидом (Faraji, 1987); сумарну GST активність оцінювали шляхом вимірювання зв'язування 1-хлоро-2,4-динітробензену з GSH. Енергетичний стан клітин HepG2 оцінювали за активністю глюкозо-6-фосфат-дегідрогенази (G6PD), а саме за її здатністю окислювати глюкозо-6-фосфат до 6-фосфоглюконолактону з відновленням НАДФ⁺ до НАДФН (Karakaya, 2016), та активністю LDH, а саме за її здатністю відновлювати піруват до лактату з окисненням НАДН (Kumar, 2018).

Здатність інгібітора тирозинових протеїнкіназ MI-1, вуглецевих наноструктур C60FAS та комплексної наноструктури C60-MI-3OH, створеної на їх основі, зв'язуватися з АТФ-зв'язуючим сайтом кіназних доменів EGFR, VEGFR, FGFR та PDGFR досліджували за допомогою молекулярного докінгу та молекулярної динаміки (пакет програм Gromacs 5.1.3).

Дослідження антипроліферативної (за допомогою МТТ-тесту) та проапоптичної (за забарвленням Аннексином V (AnV) та пропідію йодидом (PI)) активності сполук здійснювали з використанням клітинних ліній MG-63 (остеосаркома), SKOV-3 (аденокарцинома яєчників), HepG2 (гепатома людини), HL60 (гострий мієлоцитарний лейкоз), NIH3T3 (псевдонормальні фібробласти ембріона миші), HEK293 (псевдо-нормальні клітини ембріональної нирки людини), PDL (фібробластів періодонтальної зв'язки) та AOB (альвеолярних остеобластів). На клітинах HepG2 також оцінювали експресію пан-цитокератинів (СК), віментину, p53 та EGFR (імуноцитохімічними методами).

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету програм SPSS 23.0. Міжгрупові порівняння нормально розподілених даних здійснювали за допомогою однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) з наступним ретроспективним тестом Бонфероні (дані представляли як $M \pm m$); у випадку розподілу, відмінного від нормального, групи порівнювали попарно з використанням критерію Манна-Уїтні (дані представляли у вигляді медіани [25; 75 процентилів]). Вживання тварин аналізували за допомогою методу Каплана-Меєра з використанням критерію Бреслоу для порівняння різних методів лікування. Зміни вважали вірогідними при $p < 0,05$.

Прилади, використані для наукових досліджень, підлягали метрологічному контролю.



При оцінці ефектів сполук залежно від способу введення було показано, що сприятливий вплив C60FAS на товсту кишку та загальний стан організму більш виражений за його ректального введення, тоді як сприятливий вплив MI-1 зменшується у ряду інтраперитонеальне – пероральне – ректальне введення. При цьому захисні ефекти MI-1 загалом більш виражені, ніж захисні ефекти C60FAS. Оцінюючи ефекти комплексної сполуки C60-MI-3OH,

бачимо, що за перорального введення її позитивний вплив як на стан товстої кишки, так і на загальний стан організму (за сироватковими маркерами) є дозозалежним, тоді як за інтраперитонеального введення ефект є зворотнім.

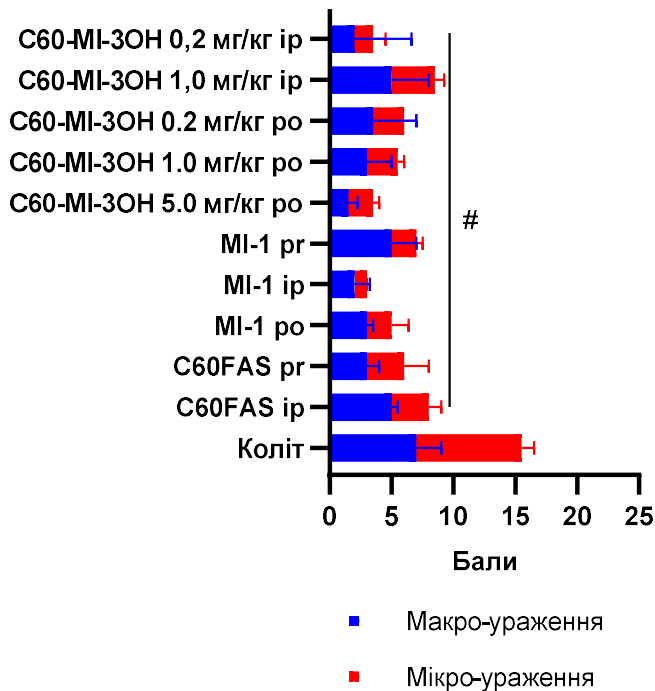


Рис. 2. Ураження слизової оболонки товстої кишки щурів за гострого коліту та введення C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг), C60-MI-3OH (0,2-5,0 мг/кг) на макро- та мікроскопічному рівні. # $p < 0,05$ порівняно з групою коліту.

За гострого АРАР-індукованого ураження печінки C60FAS та MI-1 пригнічували запалення печінки, сприяли зменшенню дистрофічних змін, накопичень сполучної тканини, частковому відновленню функціонального стану органу (за сироватковими маркерами) (не зважаючи на те, що C60FAS зумовлював порушення обміну білірубину), а також зменшенню системних проявів печінкового ураження (рис. 3, табл. 1), зокрема, негативних ефектів у підшлунковій залозі. При цьому позитивні ефекти C60FAS були більш вираженими за його інтраперитонеального введення порівняно з ректальним, а захисні ефекти MI-1 – більш вираженими порівняно із C60FAS.

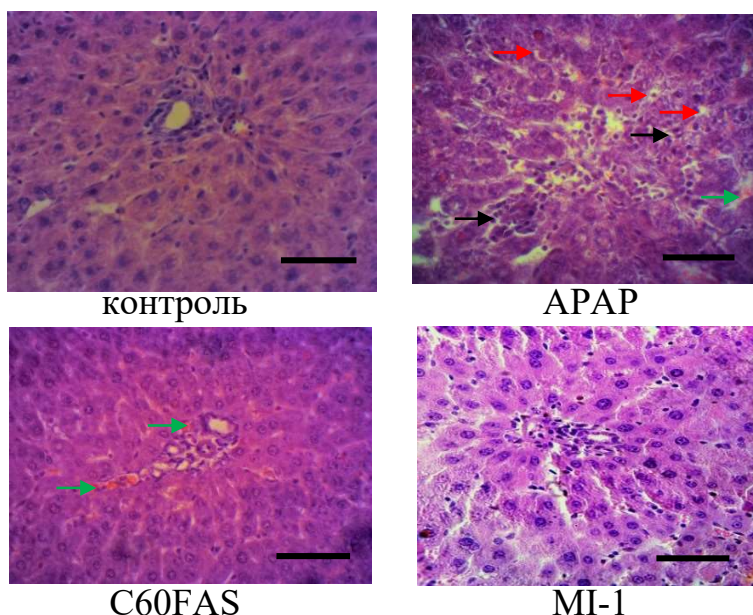


Рис. 3. Мікрофотографії (H&E, $\times 400$) печінки щурів за гострого АРАР-індукованого ураження та введення C60FAS (0,5 мг/кг) та MI-1 (2,7 мг/кг); масштаб 100 мкм, червоні стрілки – апоптичні клітини, зелені стрілки – накопичення жовчі, чорні стрілки – лімфоїдні інфільтрати

За хронізації запалення процеси ушкодження тканин поступаються місцем регенераторним процесам, що пов'язані з інтенсивною проліферацією прогеніторних клітин в ушкоджених тканинах. За хронічного коліту MI-1 і C60FAS зменшували ступінь ураження товстої кишки: слизова оболонка була злегка гіперемічною, виразок практично не мала, у половини тварин видимих неозброєним оком ознак уражень не мала взагалі (рис. 4).

На мікроскопічному рівні спостерігали відновлення структури слизової: десквамация епітелію була практично відсутньою, гістоархітектоніка крипт – не порушеною. Ознаки запалення практично не спостерігалися у групі MI-1, як і за дії препарату порівняння преднізолону, однак у групах C60FAS та MI-1+C60FAS були дещо більш вираженими (рис. 4). Усі сполуки сприяли відновленню цілісності епітеліального бар'єру товстої кишки та зменшували системні прояви хронічного коліту (за нормалізацією сироваткових маркерів). Останнє може бути наслідком саме відновлення цілісності кишкового епітелію.

Таблиця 1

Біохімічні показники сироватки крові щурів, що зазнали дії C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг) чи преднізолону (0,7 мг/кг) за гострого АРАР-індукованого ураження печінки

	Контроль	АРАР				
		-	Преднізолон	C60FAS ip	C60FAS po	MI-1
АЛТ, мкмоль/мл за год	1,43±0,08	1,92±0,14*	1,76±0,11	1,44±0,15#	1,49±0,1#	1,39±0,13#
АСТ, мкмоль/мл за год	1,82±0,1	2,15±0,16*	2,13±0,15	2,21±0,09*	2,21±0,09*	2,17±0,18*
Білірубін прямий, мкмоль/л	6,96±1,52	6,39±1,47	9,35±1,17	6,37±1,05	13,12±3,74*	4,57±0,53
Білірубін загальний, мкмоль/л	10,74±2,33	20,11±5,39*	6,3±1,1#	52,04±4,3*#	44,11±5,07*#	16,16±1,21
Білірубін непряний, мкмоль/л	3,78±0,82	10,76±4,22*	5,07±1,47	45,67±3,25*#	30,99±1,33*#	11,59±3,18*
ЛФ, мкмоль/л за хв	273,1±38,9	311,4±22,0	289,8±12,0	272,1±28,1	322,4±17,5	263,4±24,1
Тригліцериди, ммоль/л	1,7±0,23	0,88±0,11*	0,8±0,21*	0,34±0,08*#	0,18±0,03*#	0,32±0,1*#
α-амілаза, мкмоль/мл за год	26,26±3,31	20,09±2,74*	25,14±1,82#	22,39±1,19	24,47±1,02#	25,96±0,8#

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з групою АРАР

Порівнюючи ефекти C60FAS та MI-1 за їх дії окремо та сумісно із ефектами преднізолону, можна зробити висновок про співставність захисних та протизапальних ефектів усіх зазначених сполук. Однак, як і за гострого коліту, локальний захисний ефект був найбільш вираженим для MI-1 (рис. 4,

6). За сумісної дії MI-1 та C60FAS позитивні ефекти не сумувалися, що може бути наслідком подібності механізмів впливу та «конкуренції» цих сполук за одні й ті ж молекулярні мішені.

Протизапальний і захисний ефекти сполук за хронічного коліту були більш вираженими (відносно) порівняно з їх ефектами за гострої патології. Це може бути пояснене переважним їх впливом на ті сигнальні шляхи і процеси, які активуються саме за регенерації, тобто проліферативні, що узгоджується з нашою гіпотезою про реалізацію протизапальних та захисних ефектів досліджених сполук через інгібування рецепторів ростових факторів.

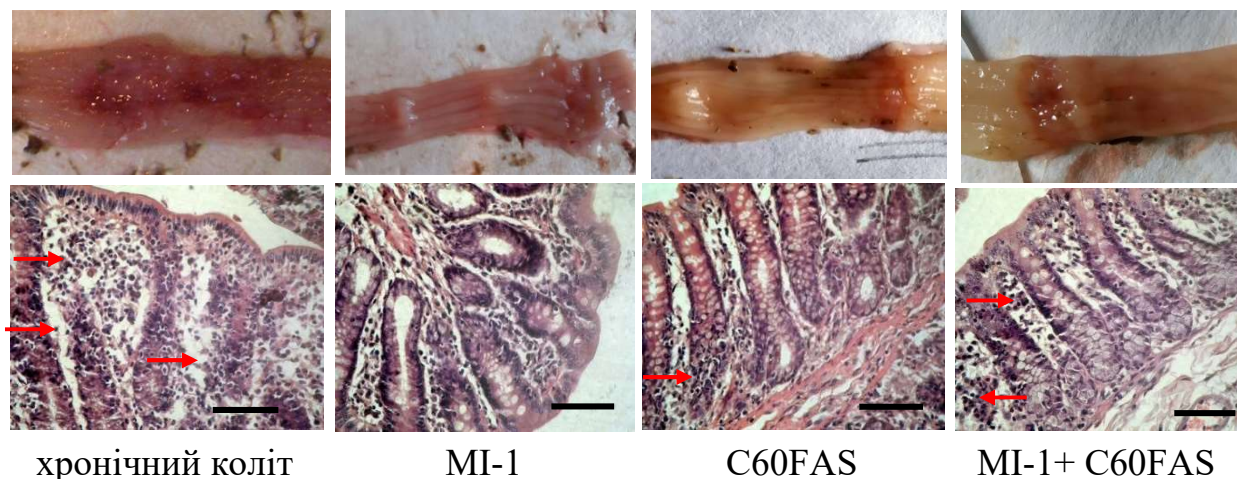


Рис. 4. Макро- та мікрофотографії (H&E, $\times 400$) слизової оболонки товстої кишки щурів за хронічного коліту та введення C60FAS (0,25 мг/кг) і MI-1 (2,7 мг/кг); масштаб 100 мкм, стрілки – лімфо-гістіоцитарна інфільтрація.

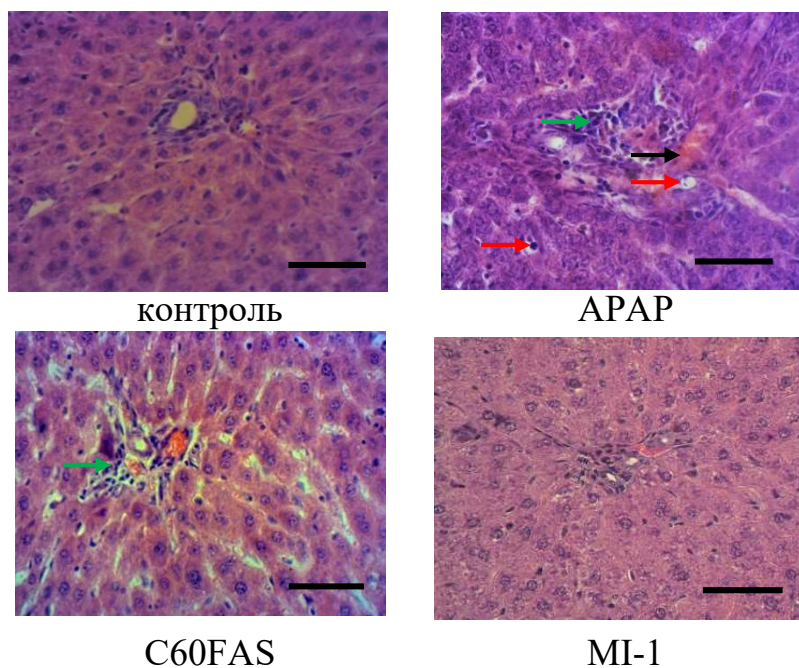


Рис. 5. Мікрофотографії (H&E, $\times 400$) печінки щурів за хронічного АРАІ-індукованого ураження та введення C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг); масштаб 100 мкм, червоні стрілки – апоптичні клітини, чорні стрілки – діapedезні крововиливи, зелені стрілки – лімфоїдні інфільтрати

За хронічного АРАІ-індукованого ураження печінки досліджені сполуки зменшували вираженість ознак дистрофічних процесів у гепатоцитах, прояви апоптичних та некротичних змін, відновлювали до норми значення

більшості біохімічних показників функціонального стану печінки. Водночас, мали місце ознаки дисфункції нирок та підшлункової залози, що може свідчити про ймовірність реалізації кумулятивних ефектів сполук (рис. 5, табл. 2). Порівнюючи гострий і хронічний вплив С60FAS та МІ-1, варто відзначити, що захисні ефекти обох сполук щодо печінки були більш виражені саме за хронічного впливу, при цьому позитивні зміни за дії МІ-1 були більш виражені порівняно зі спричиненими С60FAS, особливо ті, що стосуються накопичень сполучної тканини та скупчень запальних клітин у паренхімі органу.

Таблиця 2

Біохімічні показники сироватки крові щурів, що зазнали дії С60FAS (0,25 мг/кг), МІ-1 (2,7 мг/кг) чи преднізолону (0,7 мг/кг) за хронічного АРАР-індукованого ураження печінки

	Контроль	АРАР				
		-	Преднізолон	С60FAS ip	С60FAS po	МІ-1
АЛТ, мкмоль/мл за год	1,24±0,11	1,68±0,13*	1,1±0,18#	1,01±0,1#	1,29±0,08	1,17±0,11#
АСТ, мкмоль/мл за год	2,04±0,09	2,39±0,11*	1,88±0,07#	2,05±0,09	1,76±0,05#	1,77±0,08#
Білірубін прямий, мкмоль/л	2,87±0,56	8,77±1,45*	3,93±0,97	3,2±0,98#	3,2±1,02#	3,15±0,94#
Білірубін загальний, мкмоль/л	4,63±0,5	20,3±3,0*	7,22±1,05#	13,23±1,5*	16,66±1,9*	12,38±2,28*
Білірубін непрямий, мкмоль/л	2,66±0,64	12,73±1,97*	4,27±0,57#	10,23±1,69*	13,78±2,56*	8,53±2,17*
ЛФ, мкмоль/л за хв	195,1±8,5	272,8±22,0*	178,8±11,1	201,4±8,4	171,8±7,2	172,5±5,4
Тригліцериди, ммоль/л	0,69±0,02	0,66±0,07	0,4±0,04*#	0,8±0,03	1,29±0,06*#	1,11±0,02*#
α-амілаза, мг/л за сек	38,39±5,59	48,0±1,51*	49,82±1,13*	51,59±1,69*	52,0±1,14*	51,09±1,23*
Загальний білок, г/л	52,29±1,51	53,38±0,65	41,18±0,61*#	50,27±1,38	45,0±1,3*#	43,12±0,9*#
Креатинін, мкмоль/л	36,5±6,08	45,0±2,59*	49,0±3,41*	50,0±3,07*	44,67±1,76*	45,75±1,57*
Сечовина, ммоль/л	5,45±0,52	6,95±0,18*	6,3±0,24	6,98±0,17*	5,31±0,26	6,5±0,31

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з групою АРАР

Основним механізмом ушкодження печінкової тканини є продукування системою цитохромів Р450 короткоживучих високореактивних метаболітів, зокрема вільних радикалів, які, за їх надмірної кількості, викликають пошкодження клітинних органел, у тому числі мітохондрій, та розвиток окисного стресу. Виходячи з цього, ми вважаємо, що захисні ефекти С60 фулеренів щодо печінки за її ураження зумовлені переважно антиоксидантними властивостями цих наночастинок. Наше припущення непрямо підтверджується тим, що, хоча С60FAS суттєво поліпшує морфо-

функціональний стан гепатоцитів, однак накопичення сполучної тканини та скупчення запальних клітин у паренхімі печінки зменшуються порівняно незначно.

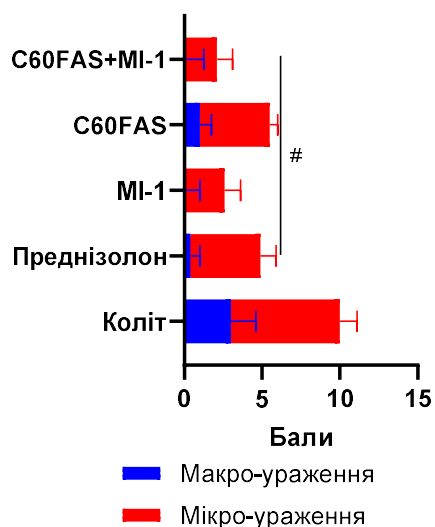


Рис. 6. Ураження слизової оболонки товстої кишки щурів за хронічного коліту та введення C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг) та преднізолону (0,7 мг/кг) на макро- та мікроскопічному рівні. # $p < 0,05$ порівняно з групою коліту

З іншого боку, застосування MI-1 не тільки пригнічує розвиток дистрофічних змін гепатоцитів, а й суттєво зменшує розростання сполучної тканини – наслідок персистуючого запалення, та інфільтрацію паренхіми залози запальними клітинами. Тобто, захисні ефекти MI-1, імовірно,

реалізуються в тому числі через пригнічення сполукою проліферації профібrogenних та запальних клітин.

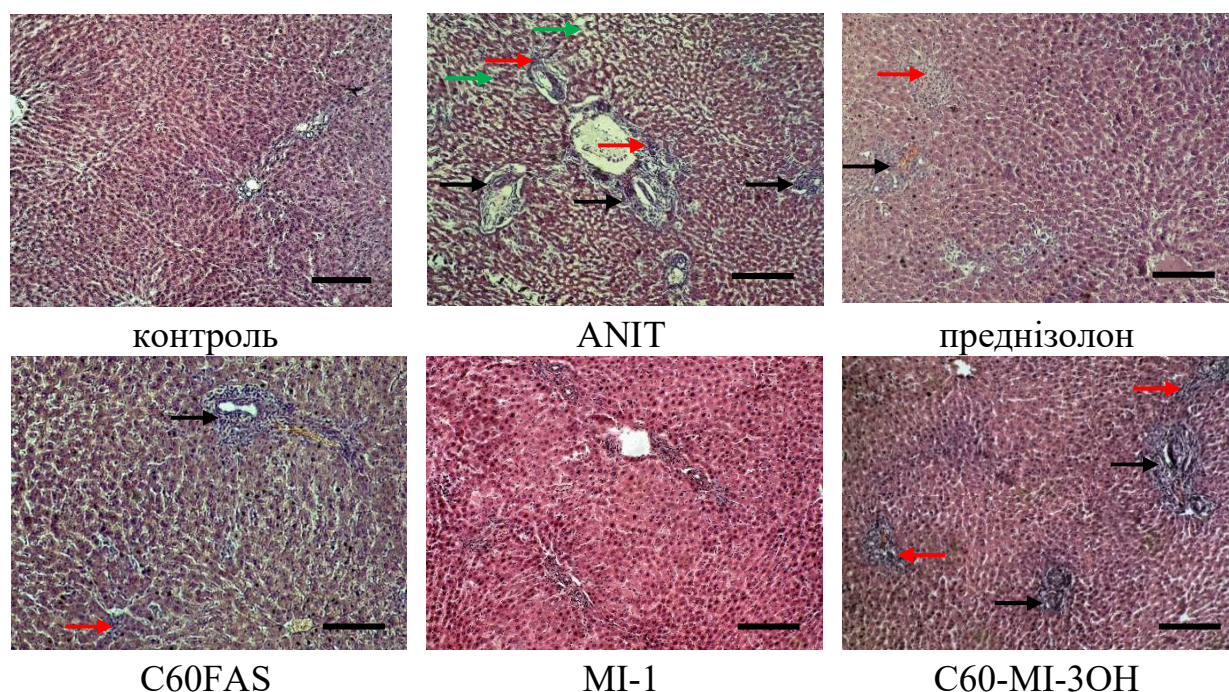


Рис. 7. Мікрофотографії (H&E, $\times 100$) печінки щурів за гострого ANIT-індукованого холангіту та введення преднізолону (0,7 мг/кг), C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг) та C60-MI-3OH (0,2-5,0 мг/кг); масштаб 200 мкм, чорні стрілки - розростання сполучної тканини навколо портальних трактів, зелені стрілки – ознаки апоптозу, червоні стрілки – запальні інфільтрати.

Ефекти похідних піролу та C60FAS за гострого та хронічного холангіту. Для оцінки впливу сполук на процеси фіброзного переродження

було проведено дослідження їх впливу на ініціюючі стадії цього процесу, а саме на розвиток гострого та хронічного запалення жовчних проток (холангіту), яке обов'язково та з перших діб призводить до їх заміщення сполучною тканиною, її розростання та розвитку фіброзу і цирозу печінки. С60FAS за обох способів введення (перорально та інтраперитонеально) та МІ-1 пригнічували симптоми гострого холангіту у вигляді накопичень сполучної тканини навколо порталних трактів, зменшували дегенеративні зміни у печінці, пригнічували запальні процеси. С60-МІ-3ОН за дії на тлі гострого холангіту на морфологію печінки практично не впливав (рис. 7, 8).

Таблиця 3

Біохімічні показники сироватки крові щурів, що зазнали дії С60FAS (0,5 мг/кг), МІ-1 (2,7 мг/кг) чи преднізолону (0,7 мг/кг) за гострого АНІТ-індукованого холангіту

	Контроль	АНІТ				
		-	Преднізолон	С60FAS ip	С60FAS po	МІ-1
АЛТ, мкмоль/мл за год	1,95±0,10	3,66±0,28*	2,18±0,21#	2,46±0,20#	2,35±0,22#	2,85±0,19*#
АСТ, мкмоль/мл за год	1,89±0,16	3,19±0,21*	2,53±0,08*#	2,98±0,26*	3,07±0,08*	3,0±0,1*
Білірубін прямий, мкмоль/л	22,03±7,84	87,94±29,79*	37,54±8,42#	25,62±10,86#	33,45±13,96#	19,62±3,04#
Білірубін загальний, мкмоль/л	30,55±4,67	159,83±46,49*	107,76±27,42*	49,66±15,25#	63,12±12,39*#	49,21±8,25#
Білірубін непрямий, мкмоль/л	8,51±3,17	72,41±17,52*	70,22±19,0*	24,04±4,38#	29,67±17,12	25,03±2,67*#
ЛФ, мкмоль/л за хв	452,3±28,1	710,0±130,4*	454,8±31,8#	421,0±23,1#	606,9±50,9	420,8±30,2#
ЛДГ, мкмоль/л за хв	249,1±66,2	996,9±51,6*	860,9±16,5*	757,7±22,1*	777,9±24,0*	725,1±27,1*
Тригліцериди, ммоль/л	1,38±0,39	0,98±0,15	1,99±0,34*#	1,38±0,06#	1,55±0,09#	1,37±0,51
Загальний білок, г/л	21,19±1,51	28,25±3,69	25,03±3,30	31,35±3,90	26,52±1,89	24,19±0,62
Креатинін, мкмоль/л	20,41±2,92	40,92±3,44*	83,82±4,99*#	42,61±9,19*	45,44±3,31*	86,92±5,40*#
Сечовина, ммоль/л	5,81±1,19	8,21±0,57	9,31±0,57*	6,36±0,66	6,73±0,67	6,43±1,22

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з групою АНІТ

Зміни сироваткових маркерів за дії С60FAS та МІ-1 вказували на пригнічення симптомів захворювання, однак, повного відновлення до контролю не спостерігалось. Так, рівні АСТ, ЛДГ і креатиніну зберігалися на рівні «нелікованих» тварин (табл. 3), що може свідчити про часткове збереження холестази і ниркової дисфункції та цитоліз гепатоцитів. С60-МІ-3ОН за введення у всіх дозах практично не впливав на морфо-функціональний стан печінки, нирок та підшлункової залози (за значеннями сироваткових маркерів, табл. 4). Хоча загальний ступінь ураження печінки дещо зменшувався, індекси фіброзу та гістологічної активності зберігалися на рівні групи холангіту (рис. 8). Тобто, терапевтична ефективність досліджених

сполук за гострого холангіту зменшувалася у ряду MI-1 > C60FAS per os > C60FAS i.p. > преднізолон > C60-MI-3ОН.

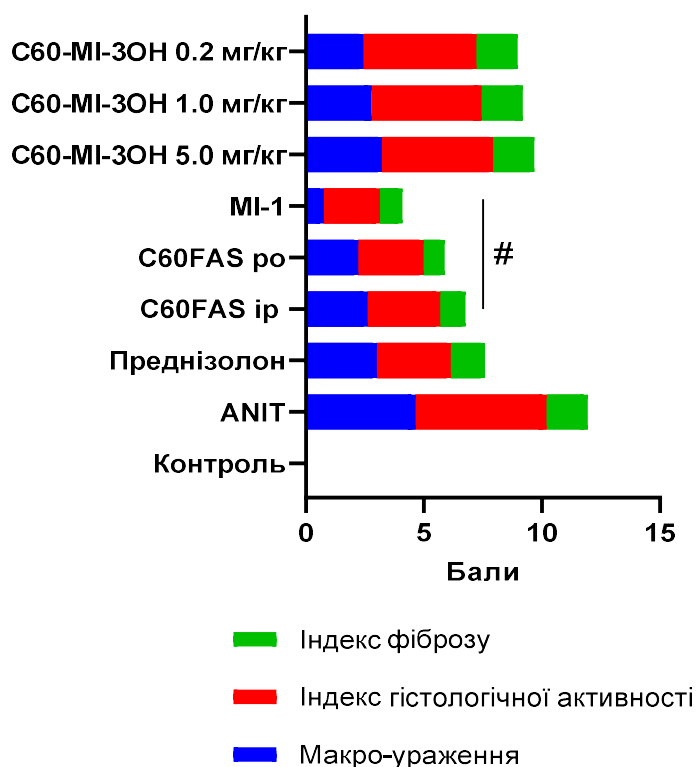


Рис. 8. Ушкодження печінки щурів, що зазнали дії C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг), C60-MI-3ОН (0,2-5,0 мг/кг) чи преднізолону (0,7 мг/кг) за гострого ANIT-індукованого холангіту. #p<0,05 порівняно з групою ANIT

За хронічного холангіту MI-1 та C60 і, на рівні тенденції, преднізолон зменшували його морфологічні прояви у вигляді накопичень сполучної тканини навколо портальних трактів (рис. 9, 10) та сприяли частковому

відновленню змінених значень біохімічних показників функціональної активності печінки (табл. 5). Крім того, введення C60FAS зумовлювало нормалізацію кількості лейкоцитів у крові (підвищеної на 40% у групі ANIT) при зростанні абсолютного вмісту нейтрофільних гранулоцитів (у 1,6 рази порівняно з групами контролю і ANIT, що може бути пов'язане із їх активним виходом у кров для подальшої міграції у тканини печінки як місця накопичення C60 фулеренів) на тлі зменшення еозинофільних гранулоцитів і лімфоцитів (на 51% і 35%, відповідно).

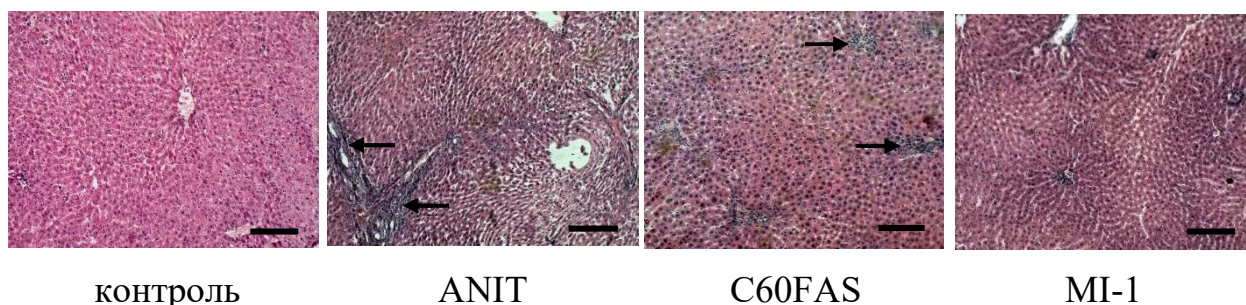


Рис. 9. Мікрофотографії (H&E, ×100) печінки щурів за хронічного ANIT-індукованого холангіту та введення C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг); масштаб 200 мкм, стрілки – розростання сполучної тканини навколо портальних трактів.

Введення МІ-1 сприяло зменшенню до норми вмісту лейкоцитів у периферійній крові, переважно за рахунок зменшення (до рівня контролю) кількості еозинофільних гранулоцитів та лімфоцитів, хоча вміст моноцитів зберігався підвищеним. Зазначені зміни свідчать про пригнічення запального процесу в організмі та узгоджуються з даними гістологічного аналізу печінки.

Таблиця 4

Біохімічні показники сироватки крові щурів, що зазнали дії С60-МІ-3ОН за гострого АНІТ-індукованого холангіту

	Контроль	АНІТ			
		-	С60-МІ-3ОН 5,0 мг/кг	С60-МІ-3ОН 1,0 мг/кг	С60-МІ-3ОН 0,2 мг/кг
АЛТ, мкмоль/мл за год	1,12±0,08	3,42±0,33*	3,38±0,23*	3,8±0,28*	3,22±0,19
АСТ, мкмоль/мл за год	2,8±0,1	3,78±0,12*	4,3±0,45*	3,99±0,15*	3,58±0,18
Білірубін прямий, мкмоль/л	6,05±1,04	19,29±2,81*	75,71±19,71*#	256,5±57,24*#	59,79±14,48*#
Білірубін загальний, мкмоль/л	9,26±0,86	36,45±2,32*	102,64±21,3*#	327,96±67,13*#	104,42±17,72*#
Білірубін непрямий, мкмоль/л	3,2±0,96	20,32±2,99*	24,66±4,26*	78,42±19,64*#	44,95±8,89*
ЛФ, мкмоль/л за хв	194,79±2,0	339,31±34,78*	337,92±25,08*	438,53±32,68*	392,2±32,17*
ЛДГ, мкмоль/л за хв	205,6±34,9	658,7±42,7*	619,7±20,3*	612,4±24,2*	560,1±38,9*
ГГТ, мкмоль/л за хв	5,72±2,08	20,03±2,88*	30,99±4,78*	75,34±2,86*#	36,56±5,28*#
Тригліцериди, ммоль/л	0,63±0,09	0,79±0,13	1,26±0,35*	0,98±0,3	0,97±0,22
α-амілаза, мкмоль/л за хв	650,7±61,8	600,7±40,1	615,0±27,8	477,0±41,9	591,2±51,8
Ліпаза, мкмоль/л за хв	18,47±3,03	89,34±9,28*	32,07±6,17#	30,64±17,86#	97,22±5,75*
Загальний білок, г/л	85,14±2,41	95,03±3,63	92,39±2,85	105,38±2,44*	98,7±3,2*
Креатинін, мкмоль/л	102,6±11,1	156,8±14,9	173,8±13,3*	222,4±17,9*#	128,1±12,1
Сечовина, ммоль/л	5,71±0,65	6,33±0,28	5,75±0,24	5,02±0,14	6,91±0,63

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з групою АНІТ

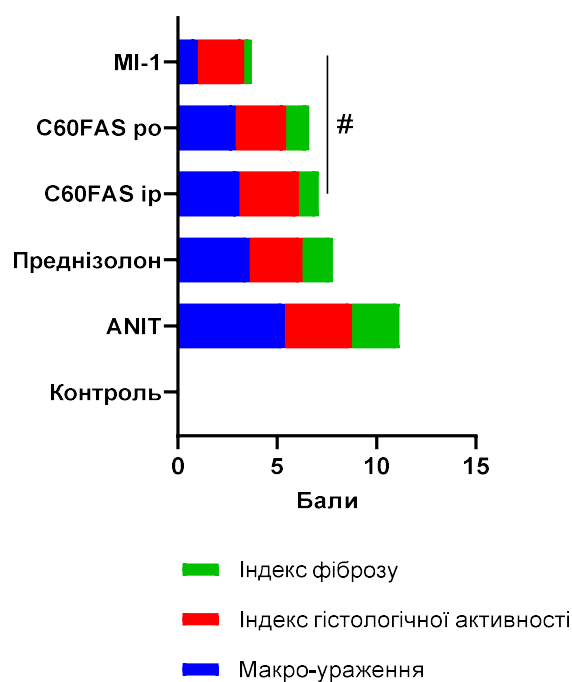


Рис. 10. Ушкодження печінки щурів, що зазнали дії C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг) чи преднізолону (0,7 мг/кг) за хронічного ANIT-індукованого холангіту. # $p < 0,05$ порівняно з групою ANIT

Ефекти C60FAS за фіброзу та цирозу печінки. На стадії DEN+CCl₄-індукованого фіброзу (гепатоцелюлярного) 10 тижнів у тварин спостерігали ознаки стеатогепатозу та мікронодулярного фіброзу, а саме накопичення сполучної тканини у вигляді добре розвинених порто-портальних зв'язуючих септ, жирової дистрофії гепатоцитів, еозинофільної альтерації,

гепатоцелюлярної гіперторофії. Подекуди зустрічалися матово-скловидні гепатоцити – ознака токсичного ураження печінки.

Таблиця 5

Біохімічні показники сироватки крові щурів, що зазнали дії C60FAS (0,5 мг/кг), MI-1 (2,7 мг/кг) чи преднізолону (0,7 мг/кг) за хронічного ANIT-індукованого холангіту

	Контроль	ANIT				
		-	Преднізолон	C60FAS ip	C60FAS po	MI-1
АЛТ, мкмоль/мл за год	1,87±0,19	2,42±0,08*	2,45±0,07*	2,31±0,08*	2,55±0,06*	2,62±0,05*
АСТ, мкмоль/мл за год	1,53±0,21	2,25±0,10*	2,09±0,23*	2,07±0,18*	1,94±0,13*	2,03±0,1*
Білірубін прямий, мкмоль/л	9,12±2,5	21,69±5,60*	7,10±1,05	15,34±5,39*	8,13±1,95	9,99±2,8
Білірубін непрямий, мкмоль/л	15,61±5,09	16,25±4,19	11,25±1,85	19,17±5,26	12,63±3,36	13,86±2,94
ЛФ, мкмоль/л за хв	211,7±19,9	139,5±8,32*	234,2±25,5 [#]	255,4±26,4 [#]	242,8±27,5 [#]	207,8±26,5 [#]
ЛДГ, мкмоль/л за хв	840,8±147,8	974,1±35,6	981,0±41,3	997,1±46,7	960,0±49,3	857,5±90,0
Тригліцериди, ммоль/л	0,82±0,04	0,60±0,06*	0,85±0,12 [#]	0,84±0,06 [#]	2,14±0,31 ^{##}	0,89±0,07 [#]
α-амілаза, мкмоль/л за хв	188,4±17,49	255,2±16,36*	226,0±21,36	249,2±29,03*	265,1±20,87*	198,5±33,57
Креатинін, мкмоль/л	25,41±2,92	36,92±2,44*	39,82±4,99*	38,61±3,47*	37,44±3,31*	39,92±5,40*
Сечовина, ммоль/л	8,26±0,56	9,23±0,50	8,04±0,65	8,96±0,61	9,01±0,55	10,68±1,14*

* $p < 0,05$ порівняно з контролем, [#] $p < 0,05$ порівняно з групою ANIT

За введення С60FAS на тлі фіброзу гепатоцелюлярного та біліарного походження зміни морфо-функціонального стану печінки свідчили про пригнічення фіброгенезу (рис. 11, 12): порто-портальні зв'язуючі септи були відсутніми, як і ознаки еозинофільної альтерації та гепатоцелюлярної гіперторофії. Однак ознаки стеатозу у вигляді ліпідних мікро- і макровезикул та осередки некрозу у паренхімі печінки зберігалися. При цьому захисні ефекти С60FAS були більш виражені за фіброзу гепатоцелюлярного походження (рис. 11).

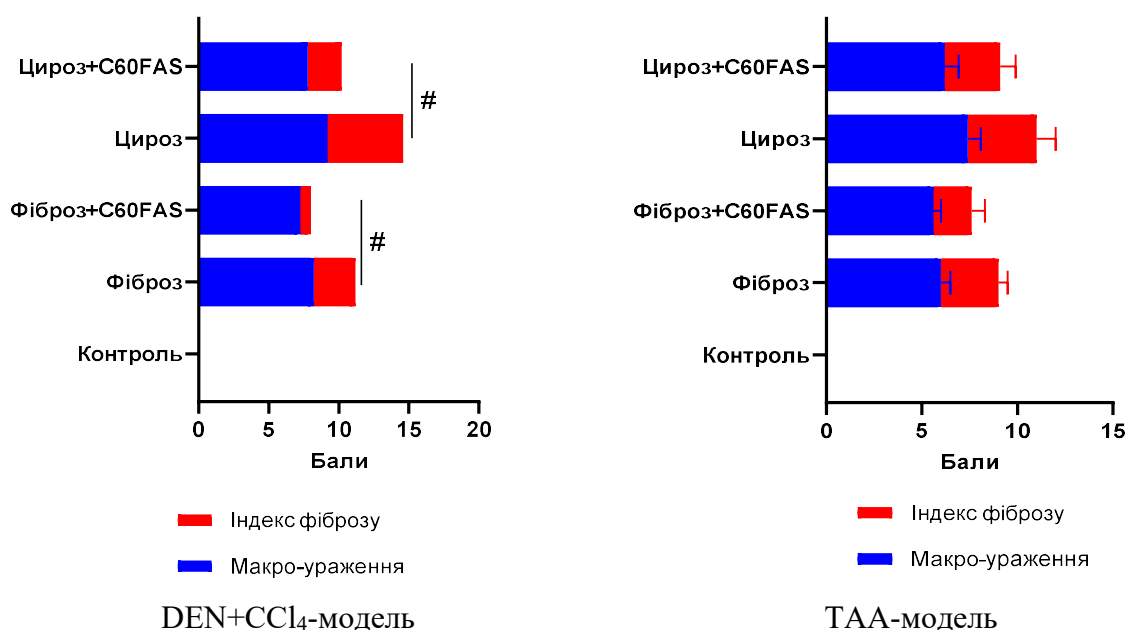


Рис. 11. Ушкодження печінки щурів, що зазнали дії С60FAS (0,25 мг/кг) за DEN+CCl₄-індукованого (гепатоцелюлярного) та ТАА-індукованого (біліарного) фіброзу та цирозу. * $p < 0,05$ порівняно з контролем, # $p < 0,05$ порівняно з групою фіброзу/цирозу.

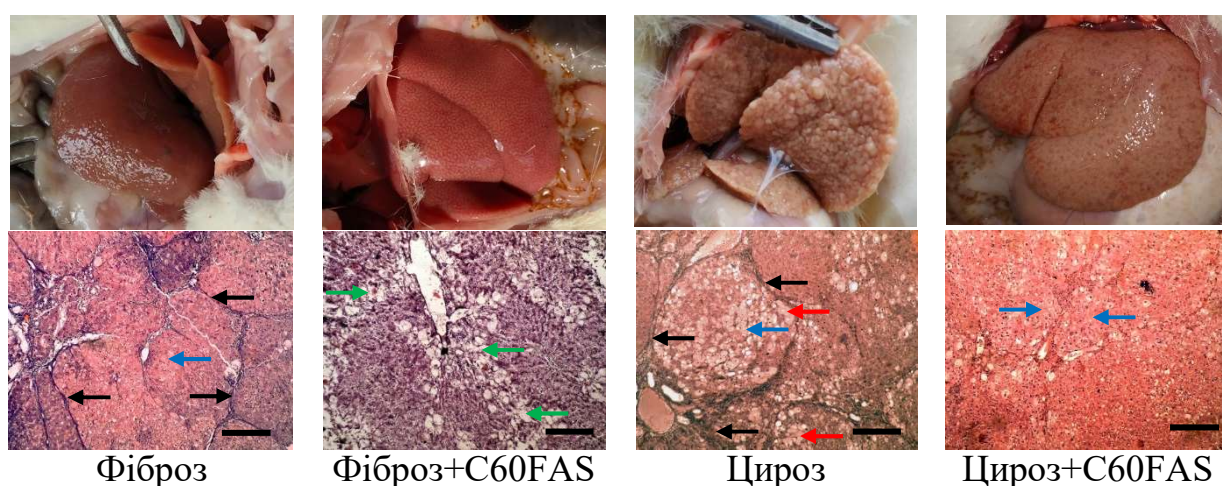


Рис. 12. Макро- та мікрофотографії (H&E, $\times 100$) печінки щурів за DEN+CCl₄-індукованого фіброзу та цирозу і введення С60FAS (0,25 мг/кг); масштаб 200 мкм, чорні стрілки - фіброзні септи, зелені стрілки - перицентральної некрози, червоні стрілки - балонна дистрофія гепатоцитів, сині стрілки - гепатоцелюлярна гіпертрофія.

Введення C60FAS за обох типів фіброзного переродження печінки сприяло відновленню до норми значень окремих сироваткових маркерів, що свідчить про часткове зменшення її ушкодження та відновлення функціональної активності (табл. 4, 5).

Таблиця 6

Біохімічні показники сироватки крові та печінки щурів за DEN+CCl₄-індукованого фіброзу та цирозу, що зазнали дії C60FAS

	10 тижнів			15 тижнів		
	Контроль	фіброз	фіброз +C60FAS	Контроль	цироз	цироз +C60FAS
Прямий білірубін, мкмоль/л	8,18±1,63	7,94±1,12	7,2±1,11	14,49±1,72	33,79±3,84*	16,54±3,5 [#]
непрямий білірубін, мкмоль/л	12,82±3,7	8,26±2,32	10,23±1,41	21,15±3,25	36,87±1,63	11,22±1,29* [#]
АЛТ, мкмоль/мл за год	0,93±0,06	0,8±0,1	3,8±0,46* [#]	1,4±0,17	4,1±0,82*	4,41±0,3*
АСТ, мкмоль/мл за год	0,81±0,07	0,84±0,12	2,99±0,53* [#]	1,45±0,15	4,16±0,45*	3,66±0,24*
ЛФ, мкмоль/мл за год	23,14±1,5	36,48±2,0*	29,42±3,93	15,49±2,54	69,07±3,58*	57,89±8,02*
ЛДГ, мкмоль/л за хв	176,0±21,1	570,4±112,3*	262,9±80,2 [#]	377,0±87,0	10762,1±2016,2*	4161,3±922,8* [#]

*p<0,05 порівняно з контролем; [#]p<0,05 порівняно з групою фіброзу/цирозу

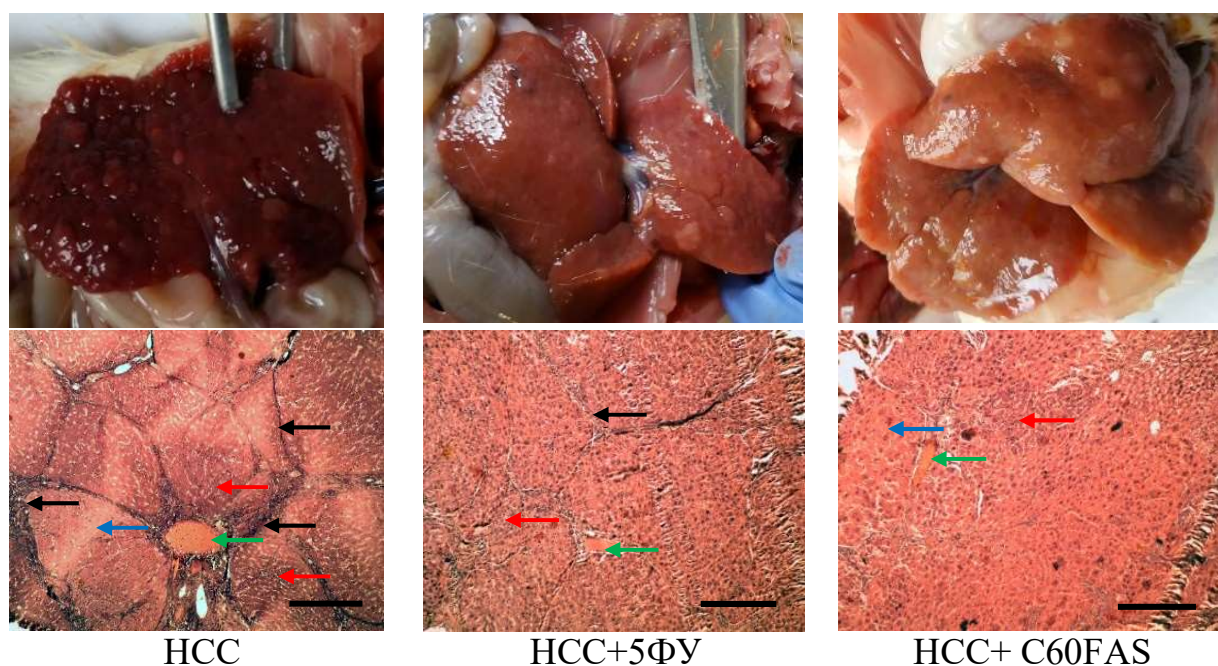


Рис. 13. Макро- та мікрофотографії (H&E, ×100) печінки щурів за DEN+CCl₄-індукованої гепатоцелюлярної карциноми і введення C60FAS (0,25 мг/кг) та 5ФУ (15 мг/кг); масштаб 200 мкм, чорні стрілки – фіброзні септи, зелені стрілки – кровостазис, червоні стрілки – базофільна альтерація гепатоцитів, сині стрілки – гепатоцелюлярна гіпертрофія

За прогресування фіброзного переродження (до 15-и тижнів) позитивні ефекти С60FAS за цирозу гепатоцелюлярного походження зберігалися, функціональна активність печінки частково відновлювалася. Однак, корекції біліарного цирозу С60FAS практично не сприяв (рис. 11, табл. 6, 7).

Ефекти похідних піролу та С60FAS за злоякісного переродження товстої кишки та печінки. Було показано здатність С60FAS пригнічувати розвиток фіброзних змін та пухлинного ураження на моделі НСС (при введенні з моменту розвиненого цирозу та початкових неопластичних змін) (на 35%, за індексами макро-ураження та фіброзу), пригнічувати метастазування за цих умов, а також сприяти частковому відновленню функціонального стану печінки (за значеннями сироваткових маркерів). Терапевтичний ефект при цьому був встановлений на рівні препарату порівняння 5ФУ (табл. 8, рис. 13, 14).

Таблиця 7

**Біохімічні показники сироватки крові щурів за ТАА-індукованого
фіброзу та цирозу, що зазнали дії С60FAS**

	10 тижнів			15 тижнів		
	Контроль	фіброз	фіброз +С60FAS	Контроль	цироз	цироз +С60FAS
Прямий білірубін, мкмоль/л	4,69±1,11	7,94±1,26	9,23±1,84	10,41±0,47	16,66±2,88*	16,2±0,84*
Непрямий білірубін, мкмоль/л	4,32±0,89	17,26±3,83*	5,8±1,07#	24,56±1,07	36,25±2,63*	44,39±3,85*
АЛТ, ммоль/л за год	1,75±0,09	3,11±0,24*	3,04±0,24*	1,26±0,18	3,25±0,41*	3,07±0,04*
АСТ, ммоль/л за год	1,98±0,17	3,73±0,39*	3,02±0,11*	1,7±0,1	2,22±0,13*	2,18±0,14*
ЛФ, ммоль/л за год	4,62±0,8	14,74±1,46*	15,15±1,41*	2,21±0,29	8,8±0,89*	7,89±2,93*
ЛДГ, мкмоль/л за хв	552,1±24,5	528,8±29,1	524,8±64,1	595,4±202,2	992,8±188,8	1126,1±185,9*
Загальний білок, г/л	24,74±2,83	42,46±4,37*	40,93±5,86*	53,7±5,1	44,7±2,3	46,3±1,5
ГГТ, мкмоль/л за с	0,52±0,04	0,67±0,05*	0,81±0,05*	0,32±0,02	0,66±0,08*	0,79±0,15*
Тригліцериди, ммоль/л	0,56±0,02	0,29±0,04*	0,41±0,06*	0,8±0,09	0,44±0,02*	0,3±0,04*

*p<0,05 порівняно з контролем; #p<0,05 порівняно з групою фіброзу/цирозу

Вплив С60FAS на тварин з ТАА-індукованою ССА був не таким різким, ніж за НСС, хоча позитивні ефекти С60FAS все ж мали місце, і зберігалися з часом. На 23-му тижні розвитку ССА (одразу після закінчення терапевтичних інтервенцій) спостерігали тенденцію до зменшення рівня ураження печінки (на 14-18%, за індексом макро-ураження), та часткове відновлення до норми змінених значень її функціональних показників, особливо за лікувально-профілактичного введення С60FAS протягом 22 тижнів – з моменту індукції ССА (рис. 15, табл. 9).

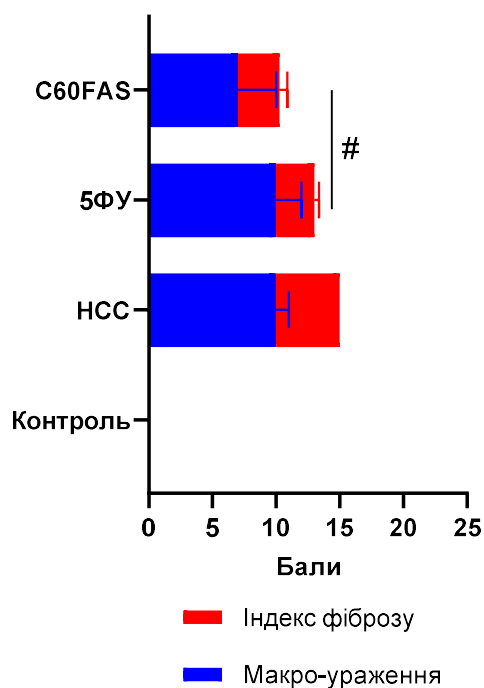


Рис. 14. Ушкодження печінки щурів, що зазнали дії C60FAS (0,25 мг/кг) та 5ФУ (15 мг/кг) за DEN+CCl₄-індукованої гепатоцелюлярної карциноми. # $p < 0,05$ порівняно з групою НСС.

При аналізі стану тварин через 31 тиж. після останнього втручання «позитивні» ефекти C60FAS зберігалися, причому були більш вираженими для групи, що отримувала C60FAS упродовж 22 тижнів, тобто лікувально-профілактично (рис. 15, табл. 10). При аналізі виживання тварин після закінчення терапевтичного втручання (точка «0», що відповідає 22 тиж. з моменту індукції патології) за НСС було показано збільшення медіани виживання тварин, що зазнавали впливу 5ФУ та C60FAS, на 76% та 82%, відповідно, порівняно з «нелікованими» тваринами.

Таблиця 8

Біохімічні показники сироватки крові щурів з НСС, що зазнавали впливу 5ФУ та C60FAS

	Контроль	C60FAS	НСС	НСС+5ФУ	НСС+C60FAS
АЛТ, мкмоль/мл за год	1,59±0,1	1,25±0,21	2,06±0,36	1,83±0,33	1,74±0,15
АСТ, мкмоль/мл за год	1,71±0,05	1,6±0,11	2,97±0,19*	2,54±0,14*	2,63±0,11*
Прямий (зв'язаний) білірубін, мкмоль/л	4,3±0,35	3,95±0,28	11,65±0,33*	6,70±0,85*#	4,55±0,82#
Загальний білірубін, мкмоль/л	13,04±1,54	16,43±1,8	30,47±0,87*	19,56±2,22*#	13,31±1,74#
Незв'язаний білірубін, мкмоль/л	8,64±1,59	12,49±1,65	18,82±0,6*	12,86±1,84#	8,76±1,18#
ЛФ, мкмоль/л за хв	333,31±46,05	335,05±32,7	405,05±2,89	280,42±24,06	303,16±41,86
ЛДГ, мкмоль/л за хв	165,65±24,39	151,39±35,12	180,89±5,5	188,36±34,45	228,43±34,72
ГГТ, МО/л	1,52±0,11	1,79±1,19	7,28±0,38*	7,35±2,12*	6,18±0,4*

* $p < 0,05$ порівняно з контролем; # $p < 0,05$ порівняно з групою НСС

При цьому ефекти С60FAS були більш вираженими порівняно з препаратом порівняння 5ФУ на подальший розвиток пухлин і метастазування. Так, у тварин з групи НСС+5ФУ на 53-му тижні спостерігали виражені метастази у підшлункову залозу, тоді як у тварин, що зазнавали дії С60FAS, видимих неозброєним оком метастазів помічено не було. Медіани виживання становили: 18[3;25] тижнів для групи НСС («неліковані» тварини), 32[31;33] тижні для групи НСС+ С60FAS та 31[7;33] для групи НСС+5ФУ.

Таблиця 9

Біохімічні показники сироватки крові щурів за ТАА-індукованої ССА (термін 22 тижні), що зазнали дії С60FAS та 5ФУ

	Контроль	ССА	ССА+С60FAS 22 тиж.	ССА+С60FAS 7 тиж.	ССА+5ФУ 7 тиж.
Прямий білірубін, мкмоль/л	11,9±3,12	31,9±3,31*	12,5±3,84#	33,2±15,83*	4,8±1,45#
Непрямий білірубін, мкмоль/л	7,4±2,89	17,3±3,01*	12,4±0,86	7,6±0,59	6,7±0,74
АЛТ, пірувату ммоль/л за год	2,24±0,11	2,33±0,13	2,45±0,16	1,7±0,17*#	2,27±0,14
АСТ, пірувату ммоль/л за год	2,7±0,09	2,88±0,2	2,5±0,09	2,14±0,08*#	2,3±0,16#
ЛДГ, МО/л	609,5±36,4	928,7±166,1*	1214,0±81,6*	1090,0±139,2*	753,4±66,8
ЛФ, 4-нітрофенолу ммоль/л за год	11,3±1,74	20,8±2,65*	20,9±2,33*	18,6±1,19	26,7±2,3*
ГГТ, мкмоль/л за с	2,15±0,5	1,87±0,51	1,87±0,66	3,85±0,58	5,48±1,53*#

*p<0,05 порівняно з контролем; #p<0,05 порівняно з групою ССА

Таблиця 10

Біохімічні показники сироватки крові щурів за ТАА-індукованої ССА (53 тижні), що зазнали дії С60FAS та 5ФУ

	Контроль	ССА	ССА+С60FAS 22 тиж.	ССА+С60FAS 7 тиж.	ССА+5ФУ 7 тиж.
Прямий білірубін, мкмоль/л	4,98±0,49	23,19±5,6*	8,63±2,48#	16,33±5,13*	17,15±4,36*
Непрямий білірубін, мкмоль/л	3,7±0,96	8,34±0,75*	4,32±0,68	7,07±1,08*	9,04±2,96*
АЛТ, пірувату ммоль/л за год	1,53±0,13	1,44±0,14	1,52±0,1	1,85±0,35	1,52±0,19
АСТ, пірувату ммоль/л за год	1,83±0,09	1,52±0,18	1,32±0,16	1,31±0,17	1,34±0,14
ЛДГ, мкмоль/л за хв	503,8±38,4	633,8±24,6	497,4±32,0	580,0±66,6	622,5±31,7

*p<0,05 порівняно з контролем; #p<0,05 порівняно з групою ССА

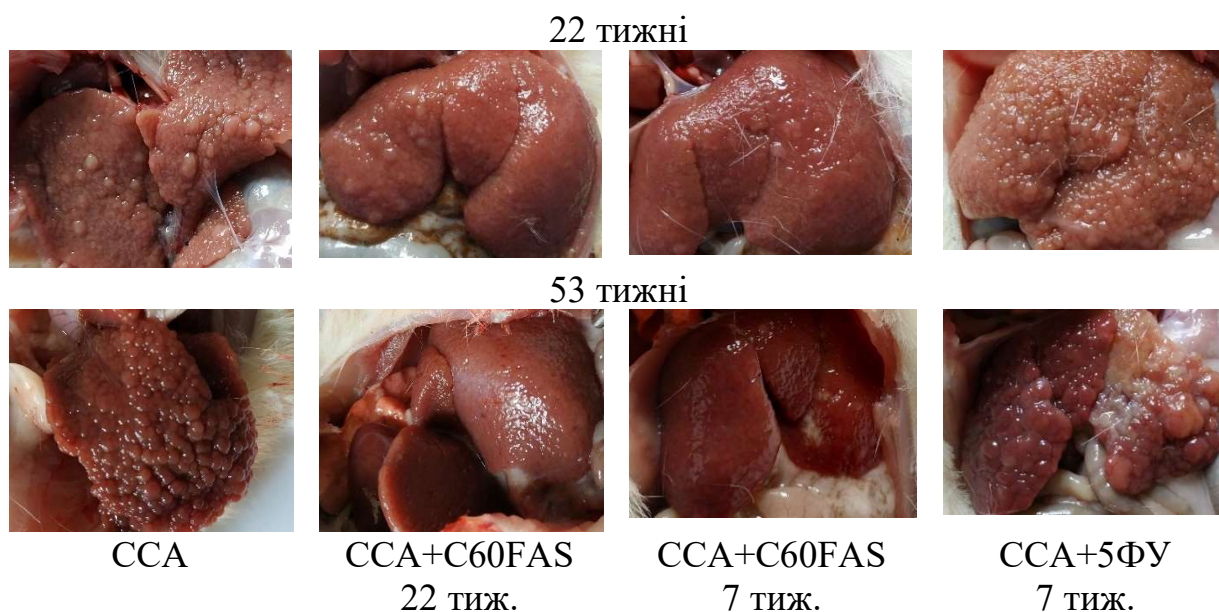


Рис. 15. Печінка щурів, що зазнавали дії С60FAS (0,25 мг/кг) протягом 7 та 22 тижнів та 5ФУ (15 мг/кг) за ТАА-індукованої холангіокарциноми через 22 та 53 тижні з моменту індукції патології.

За ССА адекватно оцінити вплив С60FAS на виживання тварин не було можливості, імовірно, через значно меншу смертність, порівняно з НСС (рис. 16). За розрахунками, медіана виживання тварин з ССА становила 24 [24;30] тижні; тварин групи ССА+С60FAS 22 тиж. - 26 [25;32] тижнів, групи ССА+С60FAS 6 тиж. – 21,2 [20;31] тижнів, групи ССА+5ФУ 6 тиж. – 24,9 [22;29] тижнів.

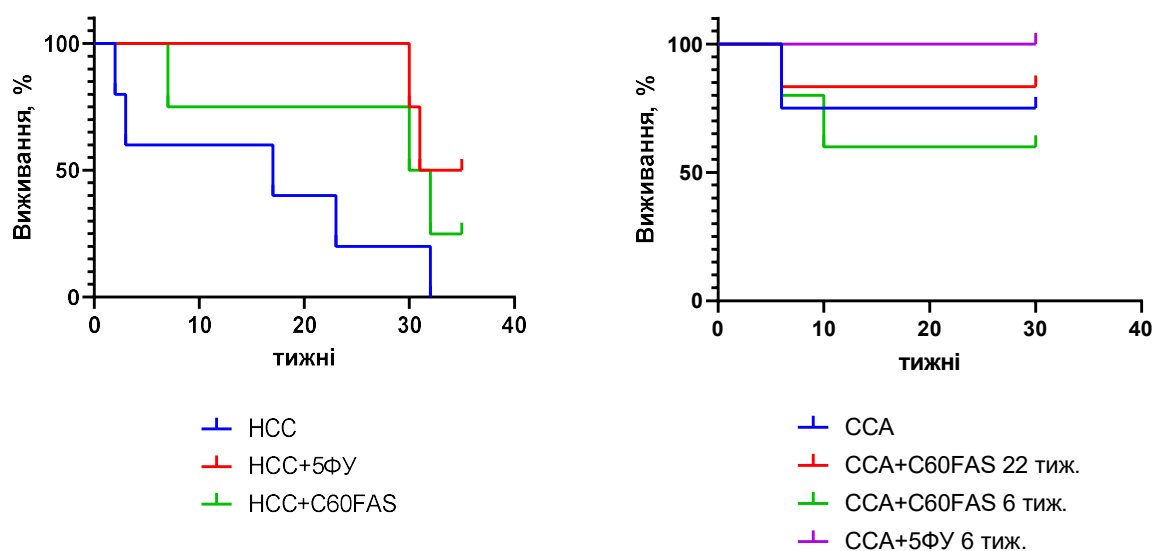


Рис. 16. Криві виживання Каплана-Мейєра тварин, що зазнавали дії 5ФУ та С60FAS на тлі НСС (зліва) та ССА (справа), після відміни терапевтичних інтервенцій. Точка «0» відповідає 22 тижням з моменту індукції патології.

За введення та тлі сформованого раку товстої кишки похідні піролу та С60FAS, як і препарат порівняння 5ФУ, зумовлювали зменшення кількості

колоректальних пухлин на одного щура на 34-64% та загальної площі пухлинного ураження на 54-72% (вірогідно чи на рівні тенденції, рис. 17, 18), що свідчить про їх протипухлинну активність. При аналізі системних ефектів сполук, зокрема, їх впливу на печінку, нирки та підшлункову залозу, більш-менш виражені сприятливі ефекти спостерігалися лише для МІ-1 (відновлення до контролю рівня непрямого білірубину та активності ЛФ) і, меншою мірою, для С60FAS (відновлення активності ЛФ). С60-МІ-3ОН за дії на тлі ДМГ-індукованого раку, хоча й пригнічував розвиток колоректальних пухлин, однак негативно впливав на стан підшлункової залози (за даними некропсії, значеннями сироваткових α -амілази та тригліцеридів) і, меншою мірою, печінки (за значеннями ГГТ, загального та непрямого білірубину), при цьому вираженість негативного впливу обернено залежала від дози сполуки.

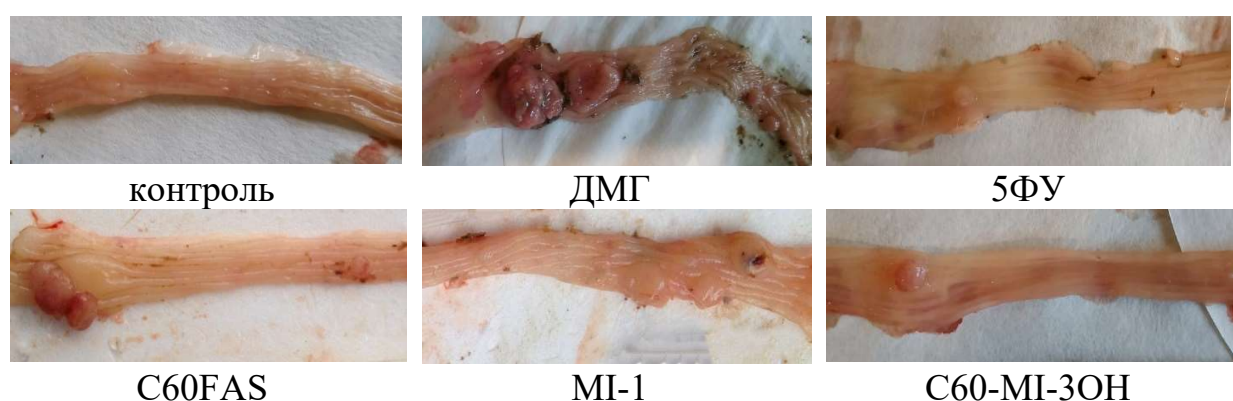


Рис. 17. Макрофотографії слизової оболонки товстої кишки щурів за ДМГ-індукованого раку товстої кишки та введення С60FAS (0,25 мг/кг), МІ-1 (2,7 мг/кг), С60-МІ-3ОН (0,04-1,0 мг/кг) та 5ФУ (15 мг/кг).

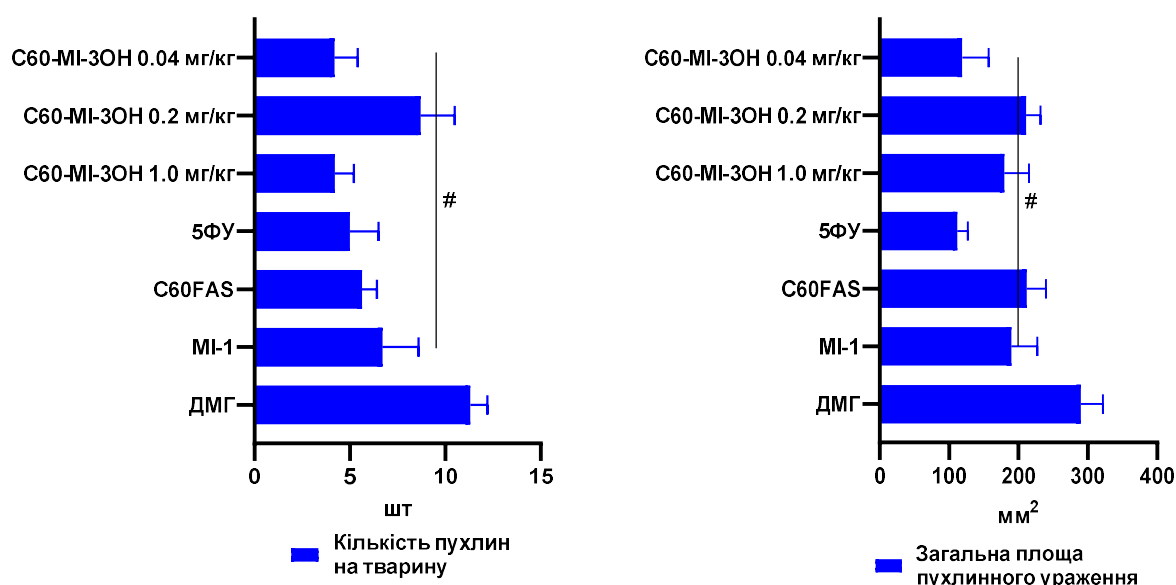


Рис. 18. Показники пухлинного ураження товстої кишки щурів з ДМГ-індукованим раком товстої кишки, що зазнали дії С60FAS (0,25 мг/кг), МІ-1 (2,7 мг/кг), С60-МІ-3ОН (0,04-1,0 мг/кг) чи 5ФУ (15 мг/кг). # $p < 0,05$ порівняно з групою ДМГ

Механізми реалізації біологічної активності похідних піролу та C60FAS.

Здатність взаємодіяти з рецепторами ростових факторів. За результатами молекулярної динаміки було встановлено, що MI-1 утворює стабільні комплекси з EGFR та VEGFR, які до того ж за розрахунками більш енергетично вигідні за такі з АТФ. Тобто, можна припустити, що MI-1 може ефективно конкурувати з АТФ та його аналогами при зв'язуванні з АТФ-зв'язуючими сайтами кіназ EGFR та VEGFR. Щодо C60 фулерену – показана теоретична можливість блокування ділянки кінази hinge (та унеможливлення взаємодії із АТФ) для EGFR та FGFR, і отримані комплекси будуть стабільними, тоді як для PDGFR та VEGFR C60 фулерен не може блокувати hinge і, як наслідок, взаємодію цих кіназних доменів із АТФ (тобто не може регулювати їх роботу). C60-MI-3ОН також теоретично має утворювати стабільні комплекси із АТФ-зв'язуючими сайтами EGFR, VEGFR та FGFR1, причому зв'язування з EGFR, і VEGFR очікувано є міцнішим і стабільнішим, а отже, може бути їх конкурентним інгібітором.

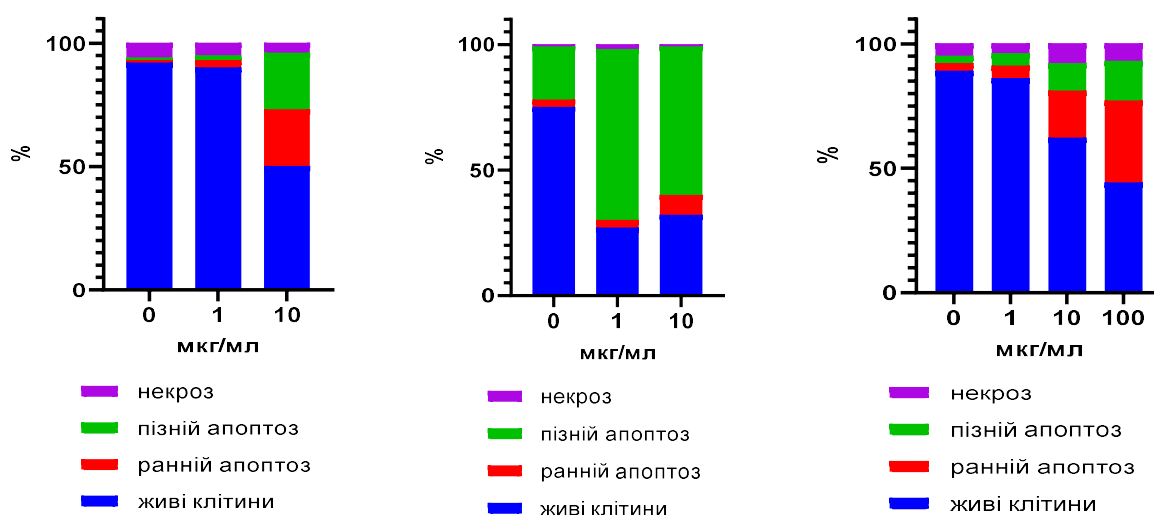
Вплив на проліферацію і апоптоз. Сигнальні шляхи рецепторів ростових факторів тісно залучені у регуляцію проліферації та виживання клітин. За їх інгібування клітини перестають проліферувати та зазнають апоптозу. Було показано, що C60FAS пригнічував проліферацію і/чи виживання клітин гепатоцелюлярного походження (HepG2), як і MI-1. При цьому останній не виявляв цитотоксичної дії щодо нормальних клітин фібробластів (NIH3T3). Сполука C60-MI-3ОН не пригнічувала ріст жодної з тестованих клітинних ліній, як нормальних, так і трансформованих, тобто цитотоксичної активності не виявляла (табл. 11).

Таблиця 11

Вплив на проліферацію і/чи виживання клітин різних ліній сполук C60FAS, MI-1 та C60-MI-3ОН

Сполука	Клітинна лінія	IC50, мкг/мл
C60FAS	HepG2	77,9
MI-1	HepG2	9,5
	HL60	0,6
	NIH3T3	>100
C60-MI-3ОН	SKOV-3	>100
	A549	>100
	HL60	>100
	HEK293	>100

Аналізуючи можливі механізми реалізації антипроліферативної дії сполук, було досліджено їх вплив на клітинну загибель. Так, і MI-1, і C60 стимулювали апоптоз пухлинних клітин, при цьому MI-1 виявляв проапоптичну дію у концентраціях 1 мкг/мл і вище, а C60FAS – 10 мкг/мл і вище (рис. 19).



M-1, MG-63, 24 год

M-1, SKOV-3, 24 год

C60FAS, HepG2, 48 год

Рис. 19. Розподіл клітин ліній MG-63, SKOV-3 та HepG2 на живі (AnV-PI-), некротичні (AnV-PI+), ранньо-апоптичні (AnV+PI-) та пізньо-апоптичні (AnV+PI+) через 24 чи 48 год інкубації у середовищі, що містило MI-1 чи C60FAS.

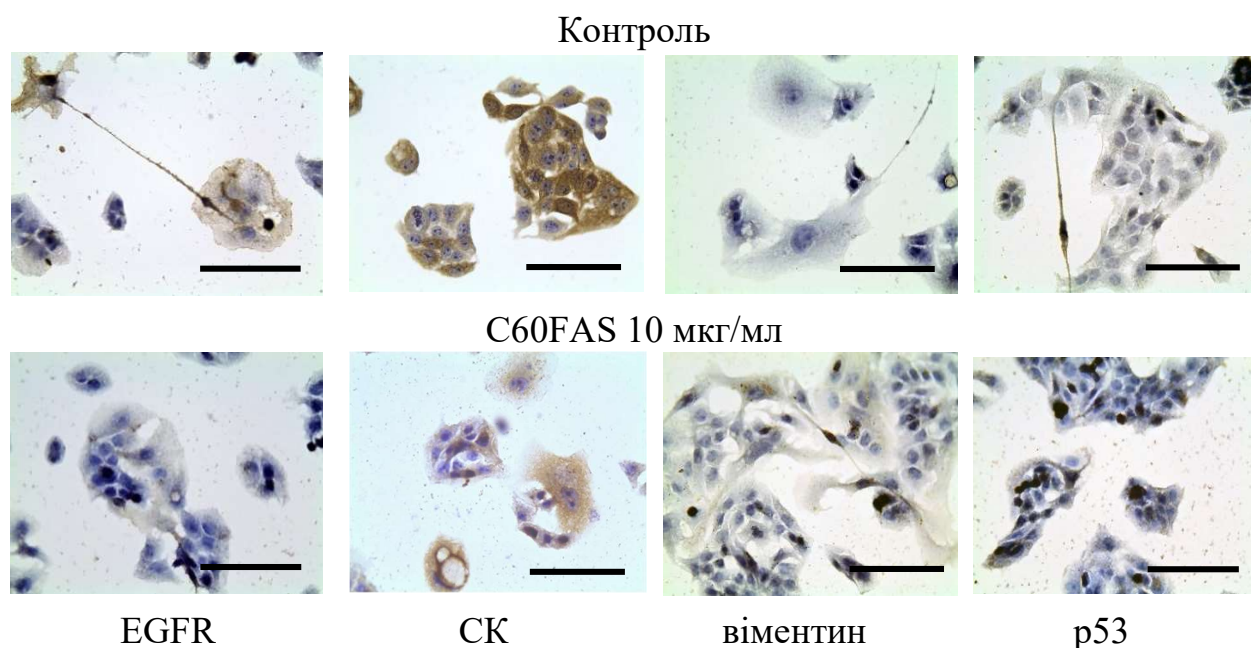


Рис. 21. Експресія EGFR, цитокератинів (СК), віментину, p53 клітинами HepG2 після 48 год інкубації у середовищі, що містить C60FAS; гематоксилін, $\times 400$, масштаб 100 мкм.

Було також показано, що C60FAS здатен впливати на експресію низки білків, залучених у проліферацію, диференціацію та апоптоз клітин. C60FAS дозозалежно пригнічував експресію EGFR та цитокератинів (СК), проте стимулював експресію віментину та p53 у клітинах HepG2 (рис. 21, табл. 12).

Перше може бути одним з механізмів реалізації протифіброзної дії С60, а останнє – їх проапоптичної дії.

Таблиця 12

Відносна кількість імунопозитивних клітин НерG2 при інкубуванні з С60FAS

	контроль	С60FAS	
		10 мкг/мл	100 мкг/мл
CK	77,0±3,9	60,0±3,0*	28,6±1,4*
Vim	8,0±0,4	12,0±0,6*	18,0±0,9*
EGFR	41,0±2,0	25,3±1,3*	12,3±0,6*
p53	10,2±0,2	14,5±0,8*	16,3±1,0*

*p<0,05 порівняно з контролем

Оскільки: гостре та хронічне запалення, фіброз та канцерогенез супроводжуються порушенням прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та окисним стресом; сигнальні шляхи ростових факторів мають спільні ланки із сигнальними шляхами, пов'язаними з продукцією АФК; С60FAS є визнаними потужними уловлювачами вільних радикалів, а для МІ-1 продемонстровано здатність пригнічувати розвиток окисного стресу за його цільового моделювання, було досліджено вплив зазначених сполук на прооксидантно-антиоксидантний стан за цих патологічних станів. За гострого та хронічного запалення товстої кишки спостерігалися явні ознаки окисного стресу у її слизовій оболонці, більш виражені за гострої патології, при цьому МІ-1 сприяв відновленню порушеної прооксидантно-антиоксидантної рівноваги (табл. 13).

Таблиця 13

Показники окисно-відновного стану слизової оболонки товстої кишки за гострого та хронічного коліту та дії МІ-1

	Гострий коліт (3 доби)			Хронічний коліт 14 діб		
	контроль	коліт	Коліт+МІ-1	контроль	коліт	Коліт+МІ-1
MDA, нмоль/мг білка	180,9±12,2	506,6±54,1*	266,6±21,2#	190,7±10,8	360,1±24,6*	272,3±34,7*#
PCG, нмоль/мг білка	284,1±20,3	1095,2±11,4*	457,5±80,2#	180,4±24,2	288,5±34,8*	205,4±23,7#
SOD, у.о./мг білка	238,7±11,5	178,5±34,6	248,5±18,5#	316,2±27,5	190,0±16,9*	265,5±32,9#
CAT, мкмоль/мг білка за хв	353,0±37,1	395,8±13,4	451,2±58,2	556,2±31,1	614,4±30,2	543,1±24,9

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з групою коліту

За фіброзу та цирозу печінки було підтверджене посилення перекисного окислення ліпідів та білків та виснаження або розбалансування системи її антиоксидантного захисту. Введення С60FAS зумовлювало часткове відновлення прооксидантно-антиоксидантної рівноваги органу (табл. 14).

Таблиця 14

Показники окисно-відновного стану печінки за DEN+CCl₄-індукованого фіброзу (10 тижнів) та цирозу (15 тижнів) та введення C60FAS

	10 тижнів			15 тижнів		
	Контроль	Фіброз	Фіброз +C60FAS	Контроль	Цироз	Цироз +C60FAS
MDA, нмоль/мг білка	301,7±35,2	400,0±70,4	410,0±66,8	345,0±53,2	755,0±26,0*	415,0±125,5
PCG, нмоль/мг білка	45,94±8,63	174,71±48,93*	44,2±10,67 [#]	42,41±11,16	48,69±11,14	33,75±9,97
SOD, у,о,/мг білка	64,64±7,9	67,44±17,0	36,58±14,5	56,51±11,39	70,71±27,28	29,94±7,27* [#]
CAT, мкмоль/мг білка за хв	831,6±196,7	957,4±145,5	475,8±72,8* [#]	463,9±139,3	439,8±160,1	506,4±33,3
GSH, нмоль/мг білка	0,15±0,02	0,13±0,03	0,27±0,1	0,27±0,06	0,09±0,01*	0,07±0,01*
GST, нмоль/мг білка за хв	46,3±8,2	111,0±8,2*	40,0±7,2 [#]	31,38±6,59	53,32±14,19	46,67±8,75
GP, нмоль/мг білка за хв	1,51±0,3	0,54±0,07*	1,29±0,29 [#]	1,4±0,36	1,09±0,71	1,37±0,21

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з групою фіброзу/цирозу

За НСС у печінці спостерігали ознаки окисного стресу у вигляді підвищення рівнів MDA та PCG у 2.1 та 3.9 рази, відповідно. Активності антиоксидантних ферментів та вміст відновленого глутатіону також зростали (на 62-180%), що може бути ознакою адаптації пухлин до окисного стресу та є досить типовим за НСС. За дії як препарату порівняння 5ФУ, так і C60FAS вміст продуктів пероксидації білків і ліпідів знижувався порівняно з «нелікованими» тваринами (на 27-74%), так само як і показники системи антиоксидантного захисту (57-82%), та відновлювалися до контрольних рівнів (табл. 15).

Таблиця 15

Показники окисно-відновного стану печінки за НСС та введення C60FAS і 5ФУ

	Контроль	НСС	НСС+5ФУ	НСС+C60FAS
CAT, мкмоль/мг білка за хв	1015,5±166,8	1229,5±235,2	889,0±92,9	829,2±87,9 [#]
SOD, у,о,/мг білка	34,3±3,3	95,9±32,6*	28,8±4,3 [#]	45,6±4,7 [#]
GSH, нмоль/мг білка	0,13±0,02	0,21±0,04*	0,15±0,04	0,17±0,03
GP, нмоль/мг білка за хв	0,77±0,18	1,32±0,02*	0,75±0,37 [#]	0,75±0,36 [#]
GST, нмоль/мг білка за хв	53,7±14,6	125,1±40,6	80,7±17,4	50,1±16,4 [#]
PCG, нмоль/мг білка	49,5±13,5	192,83±80,4*	113,7± 45,1*	141,1±58,2*
MDA, нмоль/мг білка	268,0±76,8	570,0± 21,8*	252,5±46,3 [#]	415,0±92,6 [#]

*p<0,05 порівняно з контролем, #p<0,05 порівняно з НСС

Зазначені зміни можуть свідчити про нормалізацію окисно-відновного балансу печінки, що, імовірно, пов'язано з загальним «поліпшенням» її стану.

Зміни показників окисно-відновного стану клітин лінії HepG2 за їх інкубації з C60FAS були неоднозначними: мало місце зростання активності SOD на 93% та зменшення кількості PCG на 94% (показники зниження рівня окисного стресу) одночасно з пригніченням активності CAT, GST, GP, зниженням рівня GSH (на 22-46%) та зростанням рівня MDA у 6,5 разів (ознаки окисного стресу) (Табл. 16). Більше того, зміни SOD, MDA та LDH не залежали від дози, ймовірно, через різні механізми дії різних (на порядок) доз C60FAS.

При вивченні впливу C60FAS на енергетичний стан клітин було показано, що C60FAS дозозалежно пригнічує активність G6PD – ключового фермента пентозо-фосфатного шляху – аж до практично повного інгібування при культивуванні за максимальної концентрації. В той же час активність LDH зростала (до 64% порівняно з контролем), що може свідчити про зміни енергетичного статусу клітин HepG2.

Таблиця 16

Показники окисно-відновного та енергетичного стану клітин HepG2 за їх культивування з C60FAS протягом 48 год

	C60FAS 0 мкг/мл (контроль)	C60FAS 10 мкг/мл	C60FAS 100 мкг/мл
CAT, мкмоль/мг білка за хв	1551,8±27,1	1458,9±55,3	1151,3±22,7*
SOD, у.о./мг білка	14,68±1,14	28,4±0,41*	19,17±0,62*
GSH, нмоль/мг білка	1,43±0,17	1,31±0,09	0,89±0,002*
GP, нмоль/мг білка за хв	0,29±0,01	0,31±0,02	0,23±0,01*
GST, нмоль/мг білка за хв	0,49±0,08	0,54±0,02	0,26±0,01*
PCG, нмоль/мг білка	29,27±7,14	23,81±10,94	1,56±0,62*
MDA, нмоль/мг білка	23,32±6,47	151,91±39,98*	58,53±6,59
LDH, мкмоль/мг білка за хв	1,48±0,14	2,42±0,3*	1,79±0,08
G6PD, мкмоль/мг білка за хв	6,99±0,24	3,75±0,45*	0,06±0,04*

* $p < 0,05$ порівняно з контролем (C60FAS 0 мкг/мл)

Якщо порівняти вплив C60FAS на окисно-відновний стан клітин HepG2 та тварин з індукованою НСС і згадати, що незначний окисний стрес є характерним для пухлинних клітин, то можна побачити, що зміни значень показників окисно-відновного стану *in vitro* та *in vivo* є подібними. Так, в обох випадках знизився вміст продуктів перекисного окислення ліпідів та білків, а також активність ферментів антиоксидантного захисту та вміст GSH. Останнє

стає зрозумілим, коли взяти до уваги, що система антиоксидантного захисту в пухлинних клітинах є гіперактивованою у відповідь на окисний стрес, що узгоджується з результатами, отриманими *in vivo*. Отже, як *in vitro*, так і *in vivo* C60FAS, імовірно, змінює прооксидантно-антиоксидантний стан до «нормального» та «нетуморогенного» стану: пригнічує перекисне окислення ліпідів і зменшує спричинену стресом гіперактивацію системи антиоксидантного захисту.

Отже, ефекти досліджених сполук є множинними: MI-1 та C60FAS, окрім власне блокування АТФ-зв'язуючого сайту EGFR, VEGFR та FGFR, здатні пригнічувати проліферацію клітин та стимулювати їх апоптоз, C60FAS впливає на експресію білків цитоскелету цитокератинів і віментину, EGFR та p53, обидві сполуки за їх дії на тлі запалення та C60FAS за дії на тлі фіброзного та злоякісного переродження сприяють відновленню (повному чи частковому) прооксидантно-антиоксидантної рівноваги цільових органів та системної, порушеної за цих патологічних станів. Крім того, C60FAS пригнічує аж до практично повного блокування G6PD – ключовий фермент пентозо-фосфатного шляху, що відіграє значну роль у життєдіяльності саме пухлинних клітин. Зазначені механізми дії можуть бути як прямим наслідком інгібування рецепторів ростових факторів дослідженими речовинами, так і реалізовуватись незалежно.

Узагальнення. Таким чином, застосування інгібіторів рецепторів ростових факторів, зокрема EGFR, VEGFR та FGFR може бути плідною стратегією корекції не тільки злоякісного переродження, зокрема, тканин товстої кишки та печінки, а й стадій, що передують цьому стану: фіброзу та хронічного запалення. І якщо ІТК, особливо мультикіназні, широко впроваджені в онкологічну практику, то їх застосування за хронічного запалення та фіброзу наразі обмежується академічними дослідженнями окремих нюансів цих патологій. Враховуючи: 1) послідовність фаз «запалення – фіброз - канцерогенез» у патогенезі раку печінки і, дещо меншою мірою, КРР, та очевидний причинно-наслідковий зв'язок між цими фазами, що підтверджується численними епідеміологічними даними, 2) надекспресію ростових факторів і/чи їх рецепторів, зокрема EGFR, VEGFR та FGFR за всіх зазначених стадій, 3) ефективність застосування інгібіторів цих рецепторів для пригнічення гострого та хронічного запалення, фіброзного та злоякісного переродження тканин товстої кишки та печінки, про що свідчать наші дані та дані літератури, 4) множинність механізмів реалізації протизапальної, протифіброзної та протипухлинної дії досліджених нами сполук, що включає антиоксидантну, антипроліферативну та проапоптичну, застосування інгібіторів ростових факторів за УСІХ стадій патологічного процесу видається не тільки плідною стратегією лікування окремих патологій, а є обґрунтуванням можливості впливу одним засобом одночасно на всі ланки патологічного процесу, наслідком якого є злоякісне переродження. Тобто, застосування за передракових станів (хронічного запалення та фіброзу) «важкої артилерії» у вигляді сполук, яким притаманна здатність пригнічувати

РТК, є повністю виправданим підходом і може розглядатися не як профілактика, а як повноцінна терапія, що має на меті вплив не тільки на кінцеву ланку – власне рак, а на всю низку подій: запалення, фіброз, канцерогенез.

ВИСНОВКИ

У роботі встановлено здатність неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів на прикладі C60 фулеренів (C60FAS) та похідних піролу 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону (MI-1) і 3-{{4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-3-іл}аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-C61-бутаноату (C60-MI-3OH) пригнічувати розвиток запальних, фіброзних та неопластичних змін у тканинах товстої кишки та печінки щурів за моделювання їх патологій, пов'язаних із гострим та хронічним запаленням, фіброзом, цирозом та раком, частково відновлювати порушену функціональну активність цільових органів (за значеннями сироваткових маркерів) та зменшувати системні прояви патологій. Показано здатність сполук індукувати апоптоз окремих клітинних ліній, зокрема, гепатоцелюлярного походження, впливати на експресію низки білків та прооксидантно-антиоксидантний стан цільових органів, що свідчить про множинність механізмів реалізації їх біологічної дії.

1. C60FAS, MI-1 та C60-MI-3OH пригнічують гостре та хронічне запалення товстої кишки щурів, відновлюють проникність її епітеліального бар'єру (за результатами фенолсульфоталеїнового тесту), сприяють частковому наближенню до норми значень гематологічних показників (вміст нейтрофілів у периферійній крові) та сироваткових маркерів стану печінки (АЛТ, АСТ, ЛДГ) й нирок (креатинін, сечовина), що свідчить про місцеву та системну протизапальну дію цих сполук. Протизапальні та захисні ефекти сполук більш виражені за хронічної патології.

2. C60FAS та MI-1 пригнічують запалення печінки за її гострого та хронічного АРАР-індукованого ураження, сприяють зменшенню накопичень сполучної тканини й дистрофічних змін, частковому відновленню функціонального стану органу (відновлення до норми значень АЛТ, АСТ, ЛФ, загального та прямого білірубину) та зменшенню системних проявів печінкового ураження, зокрема, негативних ефектів у підшлунковій залозі (відновлення до норми значень α -амілази). Гепатопротекторні ефекти сполук більш виражені за хронічного ураження печінки.

3. За початкових стадій фіброзного переродження печінки (гострого та хронічного холангіту) C60FAS та MI-1 сприяють зменшенню відкладень сполучної тканини навколо порталних трактів, зменшенню проявів місцевого (зменшення інфільтрації тканини печінки запальними клітинами) й системного (відновлення до норми загального вмісту лейкоцитів, вмісту лімфоцитів та еозинофілів у периферійній крові) запалення, та наближенню до норми морфо-функціонального стану печінки (відновлення до норми значень

АЛТ, ЛФ, білірубін). Терапевтична ефективність досліджуваних сполук зменшується у ряду $MI-1 > C60FAS > \text{преднізолон} > C60-MI-3OH$.

4. Зміни морфо-функціонального стану печінки за введення C60FAS на тлі розвиненого фіброзу гепатоцелюлярного та біліарного походження свідчать про пригнічення фіброгенезу (за даними гістологічного аналізу та значеннями сироваткових маркерів), хоча ушкодження гепатоцитів та ниркова недостатність персистують. При цьому захисні ефекти C60FAS більш виражені за фіброзу гепатоцелюлярного походження.

5. За прогресування фіброзного переродження позитивні ефекти C60FAS за цирозу гепатоцелюлярного походження зберігаються (зменшення накопичень сполучної тканини та дистрофічних змін гепатоцитів), функціональна активність печінки частково відновлюється (зниження активностей ЛФ та ЛДГ, нормалізація рівня білірубін). Однак, корекції біліарного цирозу C60FAS практично не сприяє.

6. C60FAS пригнічує розвиток фіброзних змін та пухлинного ураження за DEN+CCl₄-індукованої гепатоцелюлярної карциноми, пригнічує метастазування за цих умов (за даними гістологічних досліджень) та поліпшує виживання тварин (збільшення медіани виживання на 82%); терапевтичний ефект встановлений на рівні препарату порівняння 5ФУ. За холангіокарциноми терапевтична ефективність C60FAS менш виражена.

7. MI-1, C60FAS, C60-MI-3OH та препарат порівняння 5ФУ спричиняють зменшення кількості колоректальних пухлин на одного щура (на 34-64%) та загальну площу пухлинного ураження (на 54-72%). Крім того, MI-1 та C60FAS сприяють зменшенню негативних системних проявів раку товстої кишки/дії ДМГ щодо печінки (відновлення до норми вмісту білірубін та активності ЛФ у сироватці крові).

8. Похідні піролу здатні утворювати стабільні зв'язки з АТФ-зв'язуючими сайтами рецепторів ростових факторів EGFR та VEGFR, що може свідчити про їх здатність блокувати зазначені рецептори.

9. Механізми реалізації біологічної дії досліджуваних сполук не обмежуються бокуванням рецепторів ростових факторів: MI-1 та C60FAS пригнічують проліферацію клітин HL60, MG-63, SKOV-3 і HepG2 та стимулюють їх апоптоз (у концентраціях ≥ 1 і 10 мкг/мл, відповідно); C60FAS впливає на експресію білків EGFR, пан-цитокератину, віментину та p53; обидві сполуки за їх дії на тлі гострого і хронічного коліту, фіброзу й цирозу печінки та гепатоцелюлярної карциноми сприяють відновленню прооксидантно-антиоксидантної рівноваги цільових органів та системної.

10. Похідні піролу та C60 фулерени як неспецифічні інгібітори рецепторів ростових факторів здатні пригнічувати місцеві та системні прояви гострого та хронічного запалення, фіброзу, цирозу і раку (на прикладі модельних патологій) та сприяти відновленню функціональної активності цільових органів. Досліджені сполуки можуть розглядатися потенційними вихідними для синтезу засобів, що здатні впливати на вісь запалення-фіброз-канцерогенез як послідовні ланки одного патологічного процесу.

СПИСОК НАУКОВИХ ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

**Статті у фахових виданнях України та іноземних виданнях, що
індексуються базами даних Scopus та Web of Science**

1. **Kuznietsova H.**, Byelinska I., Dziubenko N., Lynchak O., Milokhov D., Khilya O., Finiuk N., Klyuchivska O., Stoika R., Rybalchenko V. Suppression of systemic inflammation and signs of acute and chronic cholangitis by multi-kinase inhibitor 1-(4-Cl-benzyl)-3-chloro-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione. *Mol Cell Biochem.* 2021;476:3021-3035. Doi: 10.1007/s11010-021-04144-y **Q2** (40% авторства: ідея дослідження, макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, отриманого *in vivo*, аналіз отриманих даних, написання статті).
2. Finiuk N.S., Ivasechko I.I., Klyuchivska O.Yu., **Kuznietsova H.M.**, Rybalchenko V.K., Stoika R.S. Cytotoxic action of maleimide derivative 1-(4-Cl-benzyl)-3-chloro-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione toward mammalian tumor cells and its capability to interact with DNA. *Ukr Biochem J.* 2020; 92(4):55-62. Doi: 10.15407/ubj92.04.055 (10% авторства: аналіз отриманих даних, участь у формулюванні висновків).
3. **Kuznietsova H.**, Dziubenko N., Herheliuk T., Prylutsky Y., Tauscher E., Ritter U., Scharff P. Water-Soluble Pristine C₆₀ Fullerene Inhibits Liver Alterations Associated with Hepatocellular Carcinoma in Rat. **Pharmaceutics.** 2020;12:794. Doi:10.3390/pharmaceutics12090794 **Q1** (60% авторства: ідея дослідження, макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, отриманого *in vivo*, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).
4. Repetsky S. P., Vyshyvana I. G., **Kuznietsova H. M.**, Rybalchenko V. K., Kruchinin S. P., Tykhoniuk O. I., Milokhov D. S., Khilya O. V. and Melnyk R. M. Models nanocomplexes based on C₆₀ fullerene for creation of biologically active agents for medicine. *Mod Phys Lett B.* 2020;34(19-20):2040064. Doi: 10.1142/S0217984920400643 **Q3** (10% авторства: аналіз отриманих даних, участь у формулюванні висновків та написанні статті).
5. **Kuznietsova H.**, Dziubenko N., Hurmach V., Chereschuk I., Motuziuk O., Ogloblya O., Prylutsky Y. Water-soluble pristine C₆₀ fullerenes inhibit liver fibrotic alteration and prevent liver cirrhosis in rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2020: 8061246. Doi: 10.1155/2020/8061246 **Q1** (50% авторства: ідея дослідження, макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, отриманого *in vivo*, участь у проведенні біохімічних досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).
6. **Kuznietsova H.**, Dziubenko N., Byelinska I., Hurmach V., Bychko A., Lynchak O., Milokhov D., Khilya O., Rybalchenko V. Pyrrole derivatives as potential anti-cancer therapeutics: synthesis, mechanisms of action, safety. *J Drug Target.* 2020; 28:5:547-563. Doi: 10.1080/1061186X.2019.1703189 **Q1** (30% авторства: участь у проведенні мікроскопічних та біохімічних досліджень, досліджень *in vitro*, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).

7. **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Herheliuk T.S., Zavalny D.K., Remeniak O.V., Prylutskyu Y.I., Ritter U. Effects of pristine C₆₀ fullerenes on liver and pancreas in α -naphthylisothiocyanate-induced cholangitis. Dig Dis Sci. 2020;65:215–224. Doi: 10.1007/s10620-019-05730-3 **Q2** (60% авторства: *ідея дослідження, макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, отриманого in vivo, участь у проведенні біохімічних досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті*).
8. **Kuznietsova H.M.**, Lynchak O.V., Dziubenko N.V., Herheliuk T.S., Prylutskyu Y.I., Rybalchenko V.K., Ritter U. Water-soluble pristine C₆₀ fullerene attenuates acetaminophen-induced liver injury. BioImpacts. 2019;9(4):227-237. Doi: 10.15171/bi.2019.28 **Q1** (60% авторства: *ідея дослідження, макроскопічний аналіз матеріалу, отриманого in vivo, участь у проведенні мікроскопічних та біохімічних досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті*).
9. **Kuznietsova H.M.**, Lynchak O.V., Dziubenko N.V., Osetskyi V.L., Ogloblya O.V., Prylutskyu Yu.I., Rybalchenko V.K., Ritter U., Scharff P. Water-soluble C₆₀ fullerenes reduce manifestations of acute cholangitis in rats. Appl Nanosci. 2019;9:601-608. Doi: 10.1007/s13204-018-0700-5 **Q2** (50% авторства: *ідея дослідження, макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, отриманого in vivo, участь у проведенні біохімічних досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті*).
10. Byelinska I.V., **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Rybalchenko T.V., Prylutskyu Yu.I., Kyzyma O.A., Ivankov O., Rybalchenko V.K., Ritter U. Effect of C₆₀ fullerenes on the intensity of colon damage and hematological signs of ulcerative colitis in rats. Mat Sci Eng C. 2018;93:505-517. Doi: 10.1016/j.msec.2018.08.033 **Q1** (30% авторства: *макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, отриманого in vivo, участь у проведенні біохімічних досліджень, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, участь у написанні статті*).
11. **Kuznietsova H.M.**, Yena M.S., Kotlyar I.P., Ogloblya O.V., Rybalchenko V.K. Antiinflammatory effects of protein kinase inhibitor pyrrol derivate. ScientificWorldJournal. 2016;2016:2145753. Doi:10.1155/2016/2145753 **Q2** (40% авторства: *ідея дослідження, макроскопічні дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті*).
12. **Kuznietsova H.M.**, Luzhenetska V.K., Kotliar I.P., Rybalchenko V.K. Effects of 5-Amino-4-(1,3-benzothiazol-2-yl)-1-(3-methoxyphenyl)-1,2-dihydro-3H-pyrrol-3-one Intake on Digestive System in a Rat Model of Colon Cancer. ScientificWorldJournal. 2015;2015:376576. Doi: 10.1155/2015/376576 **Q2** (50% авторства: *макроскопічний та мікроскопічний аналіз матеріалу, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті*).
13. Yena M.S., **Kuznietsona H.M.**, Rybalchenko V.K. Pyrrole derivatives' effect on rats' colon mucosa in experimental colitis. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2015;6(2):1154-1159. **Q3** (30% авторства: *ідея дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків*).

14. **Кузнєцова Г.М.** Линчак О.В., Данилов М.О., Котляр І.П., Рибальченко В.К. Вплив похідних дигідропіролу та малеїміду на стан печінки і товстого кишечника щурів у нормі та за умов розвитку колоректального раку. Український біохімічний журнал. 2013;85(3):62-72. Doi: 10.15407/ubj85.03.074 (30% авторства: макроскопічні та мікроскопічні дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).

15. **Kuznietsova Н.М.**, Ogloblya O.V., Rybalchenko V.K. Impact of dihydropyrrol derivative in the normal colonic mucosa of DMH-induced colon cancer rats compared with 5-fluorouracil. Experimental Oncology. 2013;5(1):25-29. **Q2** (70% авторства: макроскопічні та мікроскопічні дослідження, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).

Статті у фахових виданнях України та іноземних виданнях

1. Finiuk N.S., Klyuchivska O., **Kuznietsova Н.М.**, Vashchuk S.P., Rybalchenko V.K., Stoika R.S. Inhibitor of protein kinases 1-(4-Cl-benzyl)-3-chloro-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione induces DNA damage and apoptosis in human colon carcinoma cells. Studia biologica. 2020;14(4):3-14. Doi: 10.30970/sbi.1404.636 (15% авторства: аналіз отриманих даних, участь у формулюванні висновків).

2. Белінська І.В., **Кузнєцова Г.М.**, Дзюбенко Н.В., Гуцалюк М.А., Рибальченко Т.В., Прилуцька С.В., Рибальченко В.К. Фулерен C60 гальмує розвиток запалення та порушення гемопоезу при експериментальному хронічному холангіті. Доповіді Національної академії наук України. 2019;12: 91-100 Doi: 10.15407/dopovidi2019.12.091 (20% авторства: постановка експерименту, макроскопічний аналіз, участь у аналізі отриманих даних та формулюванні висновків).

3. **Кузнєцова Г.М.**, Линчак О.В., Белінська І.В., Черещук І.О., Мілохов Д.С., Хиля О.В., Рибальченко В.К. Цитостатичні, цитотоксичні та антиоксидантні ефекти антипухлинної сполуки – похідного малеїміду. Доповіді Національної академії наук України. 2019;10: 89-96 Doi: 10.15407/dopovidi2019.10.089 (30% авторства: біохімічні дослідження, аналіз отриманих даних та формулювання висновків, написання статті).

4. Dziubenko N.V., **Kuznietsova Н.М.**, Lynchak O.V., Rybalchenko V.K. Influence of C60-fullerenes aqueous colloid solution on liver and pancreas morphological state and blood aminotransferases of rats experienced acute cholangitis. Biotechnologia Acta. 2019; 12(1):66-74. Doi: 10.15407/biotech12.01.066 (30% авторства: постановка задачі, біохімічні дослідження, аналіз мікрофотографій, участь у аналізі отриманих даних та формулюванні висновків).

5. **Kuznietsova Н.М.**, Hurmach V.V., Bychko A.V., Tykhoniuk O.I., Milokhov D.S., Khilya O.V., Volovenko Y.M., Rybalchenko V.K. Synthesis and biological activity of 4-amino-3-chloro-1H-pyrrole-2,5-diones. In Silico Pharmacology. 2019;7(2). Doi: 10.1007/s40203-019-0051-2 (30% авторства: аналіз та узагальнення отриманих даних, їх статистична обробка, формулювання висновків, написання статті).

6. **Кузнєцова Г.М.,** Дзюбенко Н.В., Линчак О.В., Тихонюк О.І., Мілохов Д.С., Хиля О.В., Рибальченко В.К. Гепатопротекторна дія інгібітора протеїнази 1-(4-Cl-бензил)-3-хлор-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону за гострого холангіту щурів. Доповіді Національної академії наук України. 2018;5:83-90. Doi: 10.15407/dopovid2018.05.083 *(50% авторства: ідея дослідження, біохімічні дослідження, аналіз мікрофотографій, статистична обробка даних та формулювання висновків, написання статті).*
7. **Кузнєцова Г.М.,** Дзюбенко Н.В., Рибальченко Т.В., Оглобля О.В., Рибальченко В.К. Корекція гострого холангіту у щурів водорозчинними C₆₀ фулеренами. Доповіді Національної академії наук України. 2018;2:102-108. Doi: 10.15407/dopovid2018.02.102 *(50% авторства: ідея дослідження, біохімічні дослідження, аналіз мікрофотографій, статистична обробка даних та формулювання висновків, написання статті).*
8. **Кузнєцова Г.М.,** Дзюбенко Н.В., Черещук І.О., Рибальченко Т.В. Вплив водорозчинних C₆₀ фулеренів на розвиток гострого коліту у щурів. *Studia biologica.* 2017;11(1):41-50 *(60% авторства: ідея дослідження, макроскопічні та біохімічні дослідження, статистична обробка даних та формулювання висновків, написання статті).*
9. Єна М., **Кузнєцова Г.,** Дзюбенко Н., Рибальченко В. Вплив похідних піролу на слизову оболонку товстої кишки щурів, порівняно з глюкокортикоїдним препаратом, за умов розвитку експериментального коліту. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. 2015;12:150–156. Doi: 10.29038/2617-4723-2015-313-150-156 *(30% авторства: ідея дослідження, участь у аналізі та інтерпретації отриманих даних, формулюванні висновків).*
10. Єна М., **Кузнєцова Г.,** Рибальченко В. Морфофункціональний стан ободової кишки щурів за умов дії похідних піролу на тлі експериментального коліту. Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки. 2015;2:151–155. Doi: 10.29038/2617-4723-2015-302-151-155 *(30% авторства: ідея дослідження, участь у аналізі та інтерпретації отриманих даних, формулюванні висновків).*
11. Єна М.С., **Кузнєцова Г.М.,** Рибальченко В.К. Морфо-функціональний стан слизової оболонки ободової кишки щурів за умов дії різних доз цитостатичної сполуки похідного піролу. Вісник Львівського університету. Серія біологічна. 2015;70: 305-312. *(30 % авторства: ідея дослідження, участь у аналізі та інтерпретації отриманих даних, формулюванні висновків).*
12. Єна М.С., **Кузнєцова Г.М.,** Рибальченко В.К. Порівняльний вплив цитостатиків похідного малеїміду та 5-фторурацилу на слизову оболонку сліпої кишки щурів. Вісник проблем біології і медицини. 2014;4(3):133-137. *(30 % авторства: ідея дослідження, участь у аналізі та інтерпретації отриманих даних, формулюванні висновків).*
13. **Кузнєцова Г.М.,** Линчак О.В., Яблонська С.В., Бахуринська О.М., Данилов М.О., Бичко А.В., Рибальченко В.К. Властивості похідних піролу як

потенційних протипухлинних сполук нового покоління. Доповіді Національної академії наук України. 2014;5:138-142. *(40% авторства: участь у проведенні макроскопічного та мікроскопічного аналізу біологічного матеріалу, аналіз отриманих даних, формулювання висновків, написання статті).*

14. Єна М.С., **Кузнєцова Г.М.**, Линчак О.В., Рибальченко В.К. Вплив різних доз інгібітора протеїнкіназ похідного малеїміду на стан слизової оболонки сліпої кишки щурів. Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології. 2013;6(120):21-27. *(30 % авторства: ідея дослідження, участь у аналізі та інтерпретації отриманих даних, формулюванні висновків).*

Розділ монографій

1. **Kuznietsova H.**, Ogloblya O. Therapy that targets growth factor receptors – novel approach for liver cirrhosis treatment. In: Assessment and Management of Liver Cirrhosis – Recent Advances (edited by Xiaozhong Guo and Xingshun Qi). IntechOpen, 2021. DOI: 10.5772/intechopen.96552 *(80% авторства: формулювання наукової гіпотези, аналіз та узагальнення літературних даних, формулювання висновків, написання розділу монографії).*

Патенти

1. Пат. UA 124222 U (2021): Застосування 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону у терапії захворювань печінки, що супроводжуються біліарним фіброзом. Винахідники: **Кузнєцова Г.М.**, Белінська І.В., Дзюбенко Н.В., Рибальченко В.К. Власник: Київський національний університет імені Тараса Шевченка *(60% авторства: планування та постановка експериментів, аналіз результатів, узагальнення матеріалів, розробка винаходу).*

2. Пат. UA 121178 U (2020): Застосування водного колоїдного розчину немодифікованого C₆₀ фулерену у терапії фіброзу та цирозу печінки. Винахідники: **Кузнєцова Г.М.**, Дзюбенко Н.В., Линчак О.В., Гергелюк Т.С., Прилуцький Ю.І., Рибальченко В.К. Власник: Київський національний університет імені Тараса Шевченка *(50% авторства: планування та постановка основних експериментів, аналіз результатів, узагальнення матеріалів, розробка винаходу).*

3. Пат. UA 121321 U (2020): Похідні 4-аміно-3-хлоро-1H-пірол-2,5-діонів, спосіб отримання та застосування їх як засобів протиракової дії. Винахідники: Хиля О.В., Мілохов Д.С., Тихонюк О.І., Воловенко Ю.М., **Кузнєцова Г.М.**, Линчак О.В., Белінська І.В., Рибальченко В.К. Власник: Київський національний університет імені Тараса Шевченка *(15% авторства: участь у плануванні та постановці експериментів, аналіз результатів, узагальнення матеріалів, участь у розробці винаходу).*

4. Пат. UA 116312 U (2018): Застосування водного розчину немодифікованого C₆₀ фулерену для терапії гострого виразкового коліту. Винахідники: **Кузнєцова Г.М.**, Дзюбенко Н.В., Прилуцький Ю.І., Рибальченко В.К. Власник: Київський національний університет імені Тараса Шевченка *(60% авторства: планування та постановка основних*

експериментів, аналіз результатів, узагальнення матеріалів, розробка винаходу)

5. Пат. UA 103188 U (2015). Застосування 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону як засобу лікування виразкового коліту. Винахідники: **Кузнєцова Г.М.**, Линчак О.В., Рибальченко В.К. Власник: Київський національний університет імені Тараса Шевченка (60% авторства: планування та постановка основних експериментів, аналіз результатів, узагальнення матеріалів, розробка корисної моделі).

Тези доповідей

1. **Kuznietsova H.**, Dziubenko N., Herheliuk T., Lynchak O., Prylutsky Y., Ritter U. C60 fullerene inhibits hepatocellular carcinoma development and metastasis: In vitro and in vivo studies. Ann Oncol. 2020;31(S3):S156-S157
2. Zavalny D.K., **Kuznietsova H.M.**, Prilutsky Y.I. Pristine C60 fullerene reduces the manifestation of chronic colon inflammation in rats. The International research and practice conference «Nanotechnology and nanomaterials» (NANO-2020), Lviv. Abstract book. 2020:247
3. Byelinska I., Rybalchenko T., **Kuznietsova H.**, Rybalchenko V. Subacute Megakaryocytopoietic Toxicity of Maleimide Derivative with Antitumor Activity. 63rd Annual meeting of the Society of Thrombosis and Haemostasis Research. Hämostaseologie. 2019;39(S1):S45-S46
4. **Kuznietsova H.**, Dziubenko N., Herheliuk T., Perepelytsina O., Prylutsky Y., Ritter U., Scharff P., Rybalchenko V. Pristine C60 fullerenes suppress liver fibrosis and early carcinogenesis on rat hepatocellular carcinoma model. Hepatol Int. 2019;13(Suppl. 1):S262.
5. Репецький С.П., **Кузнєцова Г.М.**, Мельник Р.М., Андрусишин А.В., Рибальченко В.К. Моделі наноконплексів на основі фулерену C60 для створення антипухлинних та протизапальних медичних препаратів. Медична та клінічна хімія. 2019;21(3):283
6. **Кузнєцова Г.М.**, Гурмач В.В., Мілохов Д.С., Дзюбенко Н.В., Хиля О.В., Рибальченко В.К. Наноконплекси на основі похідних малеїмїду та C60 фулерену: створення, протипухлинні та протизапальні властивості. Медична та клінічна хімія. 2019;21(3):272-3
7. **Kuznietsova H.**, Dziubenko N., Herheliuk T., Hurmach V., Lynchak O., Prylutsky Y., Ritter U. C60 fullerene: antifibrotic, antitumor and antimetastatic nanotherapeutic for hepatocellular carcinoma treatment. UEG Journal. 2019;7:779
8. **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Ogloblya O.V., Prylutsky Yu.I., Rybalchenko V.K., Ritter U., Scharff P. Pristine C60 fullerenes affect the hepatic and extrahepatic manifestations of experimental cholangitis. Hepatol Int. 2018;12(Suppl 2):S190.
9. **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Prylutsky Yu.I., Rybalchenko V.K., Scharff P., Ritter U. Effects of water-soluble C60 fullerene nanoparticles on rats experienced acetaminophen-induced liver injury. International research and practice conference: Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2018). Kyiv, Ukraine. Abstact book. 2018:71

10. Chereschuk I.O., **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Prylutsky Yu.I., Rybalchenko V.K., Scharff P., Ritter U. Comparative effects of water-soluble C60 fullerenes and protein kinase inhibitor on rat liver under colon cancer model. International research and practice conference: Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2018). Kyiv, Ukraine. Abstact book. 2018:518
11. **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Milokhov D.S., Khylya O.V., Rybalchenko V.K. Protein kinase inhibitor having antitumor activity affects the hepatic and extrahepatic manifestations of experimental chronic cholangitis. 12th ILCA Annual Conference. Final program and abstract book. 2018:111.
12. **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Lynchak O.V., Prylutsky Yu.I., Rybalchenko V.K. Antitumor and antiinflammatory effects of C60 fullerenes expressed under modeled colon pathologies. Ann Oncol. 2017;28(Suppl. 3):mdx261.255
13. Lynchak O.V., Dziubenko N.V., **Kuznietsova H.M.**, Rybalchenko V.K., Prylutsky Yu.I., Ritter U. The C60 fullerenes influence on the state of liver and pancreas under rat ulcerative colitis model. International research and practice conference: Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2017), Chernivtsi, Ukraine. Abstact book. 2017:200
14. **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Dronov O.I., Prylutsky O.I., Rybalchenko V.K. Water-soluble nanoparticles C60 fullerenes attenuate liver failure features in rats with experimental obstructive jaundice. International research and practice conference: Nanotechnology and Nanomaterials (NANO-2017), Chernivtsi, Ukraine. Abstact book. 2017:617.
15. **Kuznietsova H.M.**, Lynchak O.V., Dziubenko N.V., Chereschuk I.O., Prylutsky Y.I., Rybalchenko V.K. The Ambiguous Effects of Pristine C60 Fullerenes on Liver under Modeled Colon Pathologies. J Pharmacol Toxicol Methods. 2018;93:138
16. Lynchak O.V., Chereschuk I.O., **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N. V., Rybalchenko V.K., Prylutsky Yu.I., Ritter U., Scharff P. C60 fullerene influences on the liver of rats with chemically-induced colon cancer. 3 Ukrainian-French School-Seminar «Carbon Nanomaterials Structure and Properties» Kyiv, Ukraine. Abstract book. 2017:56
17. Chereschuk I.O., Lynchak O.V., **Kuznietsova H.M.**, Dziubenko N.V., Prylutsky Yu.I., Rybalchenko V.K. The effects of C60 fullerenes on liver in rat chemically induced colon cancer model. Smooth Muscle Physiology, Biophysics and Pharmacology, Kyiv-Lutsk, Ukraine. Programme and Abstracts. 2017:87
18. **Kuznietsova H.M.**, Byelinska I.V., Dziubenko N.V., Gurniak O.M., Lynchak O.V., Prylutsky Yu.I., Rybalchenko V.K. C60 fullerenes attenuate the intensity of colon damage and extraintestinal manifestations on rat acute ulcerative colitis model. UEG Journal. 2017;5(Suppl 1):A742.
19. Котляр І.П., Єна М.С., **Кузнєцова Г.М.**, Рибальченко В.К. Вплив похідних піролу на систему окисного гомеостазу слизової оболонки товстої кишки щурів за умов виразкового коліту. Матеріали науково-практичної

конференції «Мультипробіотики в профілактиці та лікуванні найбільш поширених захворювань», Київ 2015: 28

20. **Кузнєцова Г.М.**, Єна М.С., Котляр І.П., Линчак О.В., Рибальченко В.К. Протизапальні ефекти інгібітора протеїнкіназ похідного піролу з протипухлинною активністю. *Онкологія*. 2015;17(3):213-214.

21. **Kuznietsova H.**, Yena M., Kotliar I., Rybalchenko V. Antiinflammatory effects of proteine kinase inhibitor pyrrol derivate having antitumor activity. *Inflamm. Bowel Dis*. 2016;22(Suppl.1): S57-S58.

22. Котляр І., Єна М., **Кузнєцова Г.М.** Біохімічні показники сироватки крові щурів при дії похідних піролу за умов виразкового коліту. X Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології», Львів. Збірник тез. 2014:27-28

23. Єна М.С., Котляр І.П., Кравець О.В., **Кузнєцова Г.М.** Стан слизової оболонки товстої кишки щурів за умов дії зростаючих доз цитостатика похідного малеїмиду. Матеріали XII міжнародної конференції студентів та молодих науковців. Київ. 2014: 100.

24. **Kuznietsova H.**, Luzhenetska V., Rybalchenko V. Effects of 5-amyno-4-(1,3-benzothiazol-2-yl)-1-(3-methoxyphenyl)-1,2-dihydro-3H- pyrrol-3-one intake on gut morpho-functional state in a rat model of colon cancer. 4th Ukrainian Congress for Cell Biology, Uzhhorod, Ukraine. 2014:99.

25. **Кузнєцова Г.М.**, Линчак О.В., Луженецька В.К., Бичко А.В., Котляр І.П., Рибальченко В.К. Похідні піролу як протипухлинні сполуки. *Фізіологічний журнал*. 2014;60(3 додаток):118-119.

26. **Kuznietsova H.**, Svitina H. M., Lynchak O. V., Babuta O. M. Kyryk V. M., Skrypkina I. Ya., Kuchma M. D., Shablii Yu. M., Dzhus O. P., Denis E. O., Zhezhera V.M., Garmanchuk L. V., Lobintseva G. S., Shablii V. A., Rybalchenko V. K. The evaluation of new colorectal cancer treatments on chemically induced colon cancer model. *UEG Journal*. 2014;2(1S):A237

27. **Кузнєцова Г.М.**, Світін Г.М., Линчак О.В., Бабута О.М., Гарманчук Л.В., Шаблій В.А., Рибальченко В.К. Нові терапевтичні підходи до лікування колоректального раку на моделі ДМГ-індукованого раку товстої кишки щурів. VII Міжнародна наукова конференція «Психофізіологічні та вісцеральні функції в нормі і при патології», Київ. Тези доповідей. 2014:89.

28. Lynchak O.V., **Kuznietsova H.M.**, Rybalchenko V.K. The maleimide derivative effect on the rat intestine morphology. Научно-практическая конференция «Биологически активные вещества: фундаментальные и прикладные вопросы получения и применения». Новый Свет, АР Крым, Украина. 2013;2:201-202.

29. **Kuznietsova H.M.**, Ogloblya OV, Lynchak OV, Rybalchenko VK. Comparative study of the effects of pyrrol derivative and 5-fluorouracil on intestine mucosa proliferation in normal rats and in setting of colorectal cancer. *Cell Technology Week 2013, Kyiv. : Abstract book*. 2013:49-50.

30. **Kuznietsova H.M., Lynchak O.V., Yablonska S.V., Bachurynska O.M., Rybalchenko V.K.** Properties of cytostatics pyrrol derivatives as potential anticancer compounds of a new generation. *Ann Oncol.* 2013;24(Suppl.4): iv119-iv.120.
31. **Kuznietsova H., Ogloblya O., Rybalchenko V.** Pyrrol derivative impact on gut mucosa proliferation compared with 5-fluorouracil. *J Gastroenterol Hepatol.* 2013;28(Suppl.3):439-440.
32. **Кузнєцова Г.М., Линчак О.В., Котляр І.П., Бурлай В.Г., Рибальченко В.К.** Порівняння ефектів нових інгібіторів протеїнази – похідних дигідропіролу і малеїміду з ефектами класичного протипухлинного препарату 5-фторурацилу. Матеріали XIV Конгресу Світової федерації українських лікарських товариств. Донецьк, Україна. 2012:323.

АНОТАЦІЯ

Кузнєцова Г.М. Вплив неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів на вісь запалення-фіброз-канцерогенез (на прикладі органів травлення) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора біологічних наук за спеціальністю 03.00.11 – цитологія, клітинна біологія, гістологія. – Київський національний університет імені Тараса Шевченка – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», м. Київ, 2021.

Досліджено можливість і доцільність впливу неспецифічних інгібіторів рецепторів ростових факторів на прикладі C60 фулеренів та похідних піролу 1-(4-Cl-бензил)-3-Cl-4-(CF₃-феніламіно)-1H-пірол-2,5-діону і 3-{[4-хлор-1-(4-хлоробензил)-2,5-діоксо-2,5-дигідро-1H-пірол-3-іл]аміно}феніл 4-[6,6]-феніл-C61-бутаноату на процеси запалення, фіброзу і канцерогенезу товстої кишки та печінки як послідовні ланки одного патологічного процесу. Показано, що C60FAS та похідні піролу здатні пригнічувати гостре та хронічне запалення товстої кишки і печінки щурів та початкові стадії її фіброзного переродження, при цьому їх ефекти більш виражені за хронічної патології. Показана здатність C60FAS пригнічувати розвиток фіброзу, цирозу і гепатоцелюлярної карциноми, і поліпшувати виживання тварин за цих умов. За раку товстої кишки усі сполуки спричиняли зменшення кількості колоректальних пухлин (на 34-64%) та загальну площу пухлинного ураження (на 54-72%). Похідні піролу та C60FAS здатні утворювати стабільні комплекси з АТФ-зв'язуючими сайтами рецепторів ростових факторів EGFR і FGFR, та EGFR і VEGFR, відповідно, а, отже, блокувати їх. Непрямі механізми реалізації біологічної дії досліджених сполук включають антипроліферативну, проапоптичну дії, вплив на експресію білків цитоскелету та p53 та на окисно-відновний стан цільових органів. Таким чином, неспецифічні інгібітори рецепторів ростових факторів (на прикладі похідних піролу та C60 фулеренів) можуть вважатися універсальними засобами впливу на процеси запалення, фіброзу та канцерогенезу як послідовні ланки одного патологічного процесу.

Ключові слова: похідні піролу, C60 фулерени, гострий та хронічний коліт, гострий та хронічний холангіт, гостре та хронічне ураження печінки, фіброз, цироз печінки, гепатоцелюлярна карцинома, холангіокарцинома, рак товстої кишки.

SUMMARY

Kuznietsova HM. Influence of growth factors receptors nonspecific inhibitors on the inflammation-fibrosis-carcinogenesis axis (on the example of digestive organs) – Manuscript.

Thesis for the scientific degree of the Doctor of Sciences in Biology, the specialty 03.00.11 – cytology, cell biology, histology. – Taras Shevchenko National University of Kyiv – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2021.

The possibility and suitability of nonspecific growth factor receptor inhibitors impact on colonic and liver inflammation, fibrogenesis and carcinogenesis as successive links of one pathological process using C60 fullerenes and pyrrole derivatives 1-(4-Cl-benzyl)-3-Cl-4-(CF₃-phenylamino)-1H-pyrrole-2,5-dione (MI-1) and 3-{[4-chloro-1-(4-chlorobenzyl)-2,5-dioxo-2,5-dihydro-1H-pyrrol-3-yl] amino}phenyl 4-[6,6]-phenyl-C61-butanoate (C60-MI-3OH) as the examples was investigated. Pyrrole derivatives and C60FAS suppressed rat colon and liver acute and chronic inflammation, while the anti-inflammatory and protective effects of the compounds are more pronounced under chronic pathology. Test compounds could inhibit the initial stages of liver fibrous degeneration (acute and chronic cholangitis) and reduce its local and systemic manifestations. The ability of C60FAS to inhibit liver fibrosis and cirrhosis and subsequent hepatocellular carcinoma development and to improve animal survival was demonstrated. However, under similar biliary pathologies C60FAS therapeutic effect was less pronounced. MI-1, C60FAS and C60-MI-3OH decreased the number of colorectal tumors (by 34-64%) and total tumor lesions area (by 54-72%) under colon cancer, and contributed to the reduction of its negative systemic manifestations as well. C60FAS, MI-1 and C60-MI-3OH could form stable bonds with the ATP-binding sites of the growth factor receptors EGFR and FGFR, and EGFR and VEGFR, respectively, indicating their ability to block those. The mechanisms of tested compounds' biological activity other than growth factor receptors inhibition included antiproliferative and proapoptotic action, impact on cytoskeletal proteins and p53 expression and target organs' redox balance. Hence, growth factor receptors non-specific inhibitors (like pyrrole derivatives and C60 fullerenes) could be considered as universal tools of influencing the inflammation, fibrosis and carcinogenesis as successive links of one pathological process.

Key words: pyrrole derivatives, C60 fullerenes, acute and chronic colitis, acute and chronic cholangitis, acute and chronic liver injury, liver fibrosis, cirrhosis, hepatocellular carcinoma, cholangiocarcinoma, colon cancer.