

ВПЛИВ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ–ПЛАТИНА НА БІОХІМІЧНИЙ СТАН ПЕЧІНКИ

В. В. ІВЧУК¹, Т. М. ПОЛІШКО¹, О. А. ГОЛІЧЕНКО²,
О. В. ШТЕМЕНКО², Н. І. ШТЕМЕНКО¹

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

²Український державний хіміко-технологічний університет, Дніпропетровськ;
e-mail: n.shtemenko@i.ua

Вивчено вплив протипухлинної системи реній–платина на біохімічні показники стану печінки у моделі пухлинного росту (карцинома Герена) та показано можливий гепатопротекторний вплив кластерних сполук ренію за введення їх щурам-пухлиноносцям у різних формах, що підтверджується зниженням у крові активності амінотрансфераз (АсАТ в 6 разів і АлАТ в 5,6 раза), лактатдегідрогенази в 4,9 раза, γ -глутамілтранспептидази у 3,6 раза та нормалізацією морфологічного стану клітин печінки порівняно з цисплатиновою групою. Підтверджено вірогідну гепатопротекторну активність кластерної сполуки ренію з адамантильним лігандом у моделі гострого токсичного гепатиту. Ця сполука знижувала концентрацію МДА у гомогенаті тканин печінки в 2 рази, а у плазмі – у 3,8 раза, та рівень активності АсАТ і АлАТ відповідно в 5,8 і 5,5 раза порівняно з контролем. Обговорено деякі аспекти механізму гепатопротекторної дії кластерних сполук ренію, які включають кон'юговану систему навколо почверного зв'язку реній–реній та алкільний радикал із суттєвим позитивним індукційним ефектом.

Ключові слова: печінка, кластерні сполуки ренію, цисплатин, канцерогенез, токсичний гепатит, гепатопротектори.

Велике значення для розвитку нових протипухлинних засобів мають біядерні карбоксилатні комплекси структурного типу «китайський ліхтарик», або «колесо пароплаву (paddlewheel, англ.)» родію, рутенію та ренію [1]. Було показано, що такі сполуки здатні зв'язуватися з ДНК та гальмувати реплікацію за механізмом, подібним до цисплатину [2]. Серед цієї групи особливо перспективними є сполуки диренію(III) завдяки своїй низькій токсичності [3]. Ця властивість сполук ренію є особливо важливою з огляду значного обмеження використання платинідів внаслідок їхньої нефро-, гепато- та нейротоксичності [4–8]. У наших попередніх роботах в експериментах на щурах показано, що кластерним сполукам ренію(III) з органічними лігандами притаманні протипухлинні властивості щодо карциноми Герена (Т8), розроблено нову протипухлинну систему реній–платина (Re-Pt), яка полягає в одноразовому введенні пухлиноносцям розчину цисплатину та 10-кратному введенні ліпосомної форми сполуки ренію у кінцевому молярному співвідношенні 1 : 4, що приводить до практично повної редукції пухлини і нормалізації системи червоної крові

[9–11]. Також було показано, що сполуки диренію виявляють властивості гальмування інтенсивності процесу пероксидного окислення ліпідів під час зберігання ізольованих гепатоцитів [12]. Біядерні кластерні сполуки ренію містять унікальний почверний зв'язок метал–метал, відсутній в біологічних молекулах, а δ -компонента цього зв'язку може відігравати роль пастки для радикалів завдяки низькоенергетичному переходу $\delta \rightarrow \delta^*$ та виявляти надзвичайні антирадикальні властивості в біологічних системах. Подальший розвиток досліджень біологічної активності цих сполук та впровадження їх у медичну практику пов'язаний із вивченням механізмів їхньої взаємодії з клітинами печінки та з'ясуванням можливостей реалізації коригуючих властивостей почверного зв'язку саме у печінці, оскільки вона є центральним органом біохімічного гомеостазу. Введення сполук ренію і платини у формі наноліпосом може привести до підсилення їхньої фармакологічної дії [13, 14]. Отже, дослідження гепатопротекторних властивостей кластерних сполук ренію під час гальмування новоутворення за різних форм введення пухлиноносцям сполук ренію і платини, зокрема у вигляді наноліпосом, є актуальним напрямом біохімічних досліджень,

що має перспективи впровадження в медичну практику.

Метою нашої роботи було дослідити гепатопротекторні властивості двох кластерних сполук ренію в ліпосомних формах різного складу в моделях пухлинного росту та гострого токсичного гепатиту за різних форм введення пухлиноносій цих сполук і цисплатину.

Матеріали і методи

У роботі досліджувалися кластерні сполуки ренію(III), які було синтезовано на кафедрі неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету [9, 15]. За просторовою структурою та складом досліджувані сполуки належать до тетра- та цис-дикарбоксилатного типу кластерних сполук ренію (III) (рис. 1).

Ліпосомні (lip) та наноліпосомні (nlip) форми, навантажені системою Re-Pt, (ліпідною складовою був фосфатидилхолін) також виготовлялися в Українському державному хіміко-технологічному університеті [16]. Ліпосоми і наноліпосоми було одержано методом тонких плівок із застосуванням ультразвука [17]. Розмір ліпосом (1–5 μm) та наноліпосом (50–150 нм), навантажених сполукою ренію або системою реній–платина, визначався нефелометрично. У роботі використовували щурів лінії Wistar вагою 100–150 г, яких утримували у стандартних умовах віварію. Експерименти на тваринах здійснювали відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, використаних в експериментальних та інших наукових цілях». Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації здоровим щурам 20%-ї суспензії клітин карциноми Герена (T8) у фізіологічному розчині [18].

Тварин було поділено на групи: інтактні тварини (група – контроль); щури-пухлиноносії (група – T8); щури-пухлиноносії,

яким вводили цисплатину (група – T8+цис-Pt); щури-пухлиноносії, яким вводили ліпосомну систему Re-Pt (група – T8+цис-Pt+[Re]lip) [9]; щури-пухлиноносії, яким вводили наноліпосомну систему Re-Pt (група – T8+[Re+цис-Pt]nlip (4:1), (4:0,5) та (4:2)). Розчин цисплатину вводили внутрішньочеревинно одноразово в дозі 8 мг/кг на 9-у добу після трансплантації пухлини [19]. Кластерні сполуки ренію у формі ліпосом розміром 5–10 мкм вводили внутрішньочеревинно на 3-ю добу після трансплантації ракових клітин з інтервалом в 1 добу протягом 21 доби за схемою антиоксидантної терапії [20] в дозі 7 мкмоль/кг із кінцевим молярним співвідношенням сполук ренію і платини 4:1. Змішані наноліпосомні форми розміром 10–100 нм, навантажені сполуками ренію та цисплатиною у молярному співвідношенні 4 : 0,5, 4 : 1 та 4 : 2, вводили десятикратно внутрішньочеревинно, за схемою антиоксидантної терапії, починаючи із 3-ї доби після трансплантації пухлини з розрахунку 7 мкмоль/кг ренієвої сполуки. На 21-й день після трансплантації пухлини проводили декапітацію щурів під ефірним наркозом.

Експеримент із моделюванням токсичного гепатиту включав наступні групи тварин: контрольна, яким вводили оливкову олію; тварини з токсичним гепатитом, який спричинювали введенням тетрахлорметану [21]; тварини з токсичним гепатитом, яким вводили наноліпосомну форму сполуки ренію та цисплатину $\text{CCl}_4 + [\text{Re} + \text{цис-Pt}] \text{nlip}$ у співвідношенні компонентів (4:1) та (4:2). Токсичний гепатит моделювали одноразовим внутрішньочеревинним введенням 50%-го розчину тетрахлорметану (CCl_4) на оливковій олії в дозі 5 мл/кг на 7-й день експерименту [22]. Наноліпосоми зі змішаним складом вводили щурам тричі із розрахунку 7 мкмоль/кг ренієвої сполуки з інтервалом через одну добу

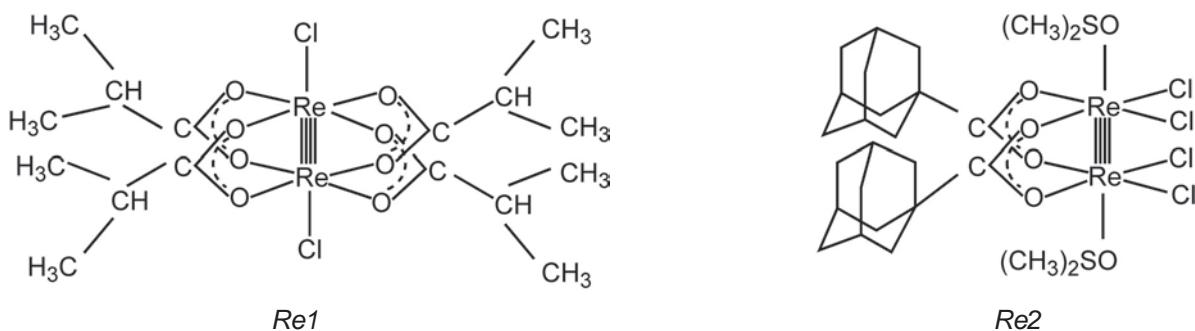


Рис. 1. Структура дихлоротетра-м-ізобутиратодиреній(III) – (Re1) та цис-бісдиметилсульфоксидотетрахлороди-м-адамантилкарбоксилато-диренію (III) – (Re2)

протягом 7 днів перед введенням тетрахлорметану [20]. Тварин декапітували через 24 год після введення тетрахлорметану, попередньо застосувавши ефірний наркоз. Досліджували біохімічні показники крові і печінки тварин.

Гістологічні дослідження тканин печінки проводили за допомогою світлової мікроскопії [22]. Із тканин печінки готували 2,5%-й гомогенат на 0,1 М фосфатному буфері (рН 7,4) [23]. Визначення інтенсивності пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) у плазмі крові та гомогенаті тканин печінки проводили за накопиченням малонового діальдегіду (МДА) [24]. Активність аланін- та аспартатамінотрансфераз (АлАТ, КФ.2.6.1.2; АсАТ, КФ.2.6.1.1), лактатдегідрогенази (ЛДГ, КФ.1.1.1.27), γ -глутамілтранспептидази (ГГТП, КФ.2.3.2.2) визначали у плазмі крові спектрофотометрично [25].

Статистичний аналіз одержаних результатів здійснювали за допомогою методів варіаційної статистики з використанням стандартного пакету комп'ютерних програм Excel. Достовірність відмінностей між групами даних розраховували за непараметричним U-критерієм Манна-Уїтні [26].

Результати та обговорення

Сполуки Re1 та Re2 було обрано для дослідження гепатостабілізуючої активності, оскільки вони у складі системи Re-Pt мали максимальну протипухлинну активність серед вивчених сполук ренію [9–11].

Під час розвитку карциноми Герена (Т8) активність АсАТ у плазмі крові щурів підвищується в 15,5 раза, а активність АлАТ – у 12,3 раза порівняно з контролем, що вказує на

процеси руйнування мембран клітин печінки (табл. 1).

Подальше підвищення активності АсАТ і АлАТ в 1,5 раза відбувається за дії цисплатину в умовах гальмування росту пухлини, що підтверджує його гепатотоксичність. Введення сполук системи Re-Pt призводить до нормалізації активності АлАТ у плазмі крові щурів, особливо ефективна Re2. За порівняння активності ензимів АсАТ та АлАТ плазми крові щурів у групах тварин, де застосовувались протипухлинні сполуки ренію та платини із групою, в якій використовувався лише цисплатин, можна відмітити, що їхня активність істотно знижується. При цьому активність АсАТ та АлАТ змінюється по-різному: АсАТ знижується у 7,6 раза відносно цисплатинової групи і залишається значно більшою ніж контроль, а активність АлАТ практично знижується до норми. Враховуючи локалізацію амінотрансфераз [27] і відому токсичність цисплатину, можна припустити, що введення цисплатину призводить до суттєвих пошкоджень гепатоцитів, зачіпаючи як цитозольні, так і мітохондріальні процеси, оскільки 2/3 АсАТ знаходиться в мітохондрії. Кластерні сполуки ренію за такого способу введення можуть проявляти мембранопротекторну дію, особливо ефективну щодо зовнішніх мембран гепатоцитів (АлАТ – паренхімний ензим гепатоцитів [28, 29]), таким чином перешкоджаючи виходу цитозольних ензимів із гепатоцитів. Особливо потрібно відмітити сполуку Re2, застосування якої призводить до нормалізації процесу вивільнення амінотрансфераз у кров та може свідчити про значну гепатопротекторну активність Re2. Під

Таблиця 1. Вплив ліпосом із різним вмістом сполук Re та цисплатину на активність ензимів плазми крові щурів (мкмоль/год·мл; $M \pm m$, $n = 14-16$)

Умови експерименту	Ефективність гальмування пухлини, %	АсАТ	АлАТ	ЛДГ	ГГТП
Контроль		0,41 ± 0,01	0,52 ± 0,05	121,00 ± 1,71	6,81 ± 0,09
Т8		6,24 ± 0,04*	6,42 ± 0,02*	597,00 ± 1,23*	43,38 ± 0,31*
Т8 + цис-Pt	57,13	9,58 ± 0,09*	9,81 ± 0,07*	861,00 ± 1,18*	45,47 ± 0,13*
Т8 + [Re1]lip + цис-Pt	95,22	1,26 ± 0,03* [#]	0,60 ± 0,01 [#]	195,00 ± 1,24 [#]	38,35 ± 0,19*
Т8 + [Re2]lip + цис-Pt	88,56	0,44 ± 0,01 [#]	0,53 ± 0,02 [#]	159,00 ± 1,11 [#]	9,93 ± 0,04 [#]

* $P < 0,05$ відносно контролю; [#] $P < 0,05$ відносно Т8+цис-Pt

час розвитку пухлини активність ЛДГ у плазмі крові підвищується в 5 разів. Використання цисплатину призводить до зростання активності ЛДГ у плазмі крові в 7 разів порівняно з контролем і в 1,4 раза порівняно із групою Т8. Введення сполук ренію і платини знижує рівень ензиматичної активності ЛДГ, особливо істотно (у 5 разів) можна відзначити у разі введення сполук ренію і платини Re2+цис-Pt.

Ензиматична активність ГГТП у плазмі крові щурів у групі Т8 зростає в 6,5 раза порівняно з контрольною групою тварин. Протипухлинна терапія цисплатином веде до подальшого зростання активності даного ензиму. Введення сполук ренію і платини зменшує рівень активності ензиму у плазмі крові, особливо суттєво (у 4,9 разів) спостерігається при використанні сполук Re2+цис-Pt.

Оскільки активність вивчених ензимів змінюється також у тканинах печінки (дані не наведено), то відомі функції і субклітинна локалізація цих ензимів дозволяють припустити, що за дії сполук ренію відбувається нормалізація різноманітних біохімічних процесів.

Розробка методу одержання наноліпосом, що навантажені системою Re-Pt [16], дозволила варіювати вмістом інкапсульованих нанопрепаратів. Використання змішаних наноліпосом сполук ренію і платини з Re1 у співвідношенні 4 : 1, практично призводить

до повної редукції пухлини та до зменшення виходу діагностичних ензимів у кров (табл. 2).

Зменшення кількості цисплатину призводить до зменшення протипухлинного ефекту, а збільшення цисплатину вдвічі всередині нанокапсули практично не впливає на біохімічні показники печінки. Отже, використання змішаних наноліпосом, навантажених системою реній–платина у випадку Re1 супроводжується значним гепатопротекторним ефектом порівняно з Т8- та Т8 + цис-Pt-групами та дозволяє збільшувати дозу цитостатика без негативного ефекту на біохімічні показники печінки.

Як показано вище, введення сполуки ренію Re2 і платини виявило значний гепатопротекторний ефект Re2 навіть у разі введення цисплатину в розчин. За інкапсуляції цієї системи в наноліпосомах спостерігається підвищення протипухлинної активності разом зі збереженням низького рівня активності ензимів (табл. 3).

Підвищення кількості цисплатину практично не впливає на протипухлинну активність, проте збільшує вихід ензимів у кров. Отже, як і для першої сполуки, форма введення у вигляді наноліпосом із співвідношенням компонентів всередині наноліпосоми 4 : 1 є найраціональнішою. Використання змішаних наноліпосомних форм сполуки Re2 та цисплатину у співвідношенні

Таблиця 2. Вплив ліпосом і наноліпосом із різним вмістом сполуки Re1 та цисплатину на активність ензимів плазми крові щурів (мкмоль/год-мл; $M \pm m$, $n = 14-16$)

Умови експерименту	Ефективність гальмування пухлини, %	АсАТ	АлАТ	ЛДГ	ГГТП
Контроль		0,41 ± 0,01	0,52 ± 0,05	121,00 ± 1,71	6,81 ± 0,09
Т8		6,24 ± 0,04*	6,42 ± 0,02*	597,00 ± 1,23*	43,38 ± 0,31*
Т8 + цис-Pt	57,13	9,58 ± 0,09*	9,81 ± 0,07*	861,00 ± 1,18*	45,47 ± 0,13*
Т8 + цис-Pt + [Re1]lip	95,22	1,26 ± 0,03#	0,60 ± 0,01#	195,00 ± 1,24#	38,35 ± 0,11#
Т8 + [Re1 + цис-Pt]nlip (4 : 1)	99,09	0,82 ± 0,01#	0,60 ± 0,01#	644,0 ± 1,1#	18,24 ± 0,08#
Т8 + [Re1 + цис-Pt]nlip (4 : 0,5)	56,22	1,06 ± 0,02#	0,80 ± 0,02#	650,00 ± 1,21#	20,36 ± 0,09#
Т8 + [Re1 + цис-Pt]nlip (4 : 2)	99,16	1,26 ± 0,01#	0,80 ± 0,03#	1100,00 ± 1,13#	35,12 ± 0,12#

* $P < 0,05$ відносно контролю; # $P < 0,05$ відносно Т8+цис-Pt

Таблиця 3. Вплив ліпосом і наноліпосом із різним вмістом сполуки Re2 та цис-Pt на активність ензимів плазми крові щурів (мкмоль/год-мл; $M \pm m$, $n = 14-16$)

Умови експерименту	Ефективність гальмування пухлини, %	Asp-AT	Ala-AT	ЛДГ	Glu-ТП
Контроль		0,41 ± 0,01	0,52 ± 0,05	121,00 ± 1,71	6,81 ± 0,09
T8		6,24 ± 0,04*	6,42 ± 0,02*	597,00 ± 1,23*	43,38 ± 0,31*
T8 + цис-Pt	57,13	9,58 ± 0,09*	9,81 ± 0,07*	861,00 ± 1,18*	45,47 ± 0,13*
T8 + [Re2]lip + цис-Pt	88,56	0,44 ± 0,01 [#]	0,53 ± 0,02 [#]	159,00 ± 1,11 [#]	9,93 ± 0,04 [#]
T8 + [Re2 + цис-Pt]nlip (4 : 1)	99,69	1,51 ± 0,07 [#]	1,73 ± 0,09 [#]	173,00 ± 1,73 [#]	12,53 ± 0,01 [#]
T8 + [Re2 + цис-Pt]nlip (4 : 2)	98, 81	2,89 ± 0,02 [#]	2,96 ± 0,02 [#]	287,00 ± 1,91 [#]	19,06 ± 0,03 [#]

* $P < 0,05$ відносно контролю; [#] $P < 0,05$ відносно T8 + цис-Pt

4 : 1 знижує активність Asp-AT у 6 разів і Ala-AT в 5,6 раза, а збільшення кількості цисплатину всередині наноліпосомі призводить до зниження активності обох ензимів лише у 3 рази. Змішані наноліпосомні форми сполук ренію і платини зі сполукою Re2 з молярним співвідношенням компонентів 4 : 1 та 4 : 2 знижують ензиматичну активність ЛДГ в 4,9 раза і в 3 рази відповідно.

Використання змішаних наноліпосомних форм 4 : 1 та 4 : 2 сполук ренію і платини зі сполукою Re2 відповідно знижує ріст активності Glu-ТП в 3,6 раза і в 2,3 раза, що підтверджує вплив сполук ренію, особливо сполуки Re2, на вихід ензимів печінки у кров.

Отже, сполука Re2 виявляє значну гепатопротекторну активність незалежно від ступеню гальмування пухлини в даному експерименті і незалежно від способу введення системи реній-платина. Тому наступним етапом нашої роботи було довести її активність на іншій моделі – моделі токсичного гепатиту.

Про глибину патологічного процесу в печінці можуть свідчити зміни деяких біохімічних показників гомогенатів тканин печінки [29,30]. Введення тваринам розчину ТХМ веде до збільшення в 1,9 раза концентрації МДА у гомогенаті тканин печінки і в 4 рази – у плазмі крові відносно контрольної групи тварин (табл. 4).

Таблиця 4. Вплив наноліпосом із різним вмістом сполуки Re2 та цис-Pt на активність амінотрансфераз та концентрацію ТБК-активних продуктів у разі токсичного ураження печінки ($M \pm m$, $n = 14-16$)

Умови експерименту	Плазма крові, мкмоль/год-мл		Концентрація ТБК-активних продуктів	
	Asp-AT	Ala-AT	Гомогенат печінки МДА, нмоль/г тканини	Плазма крові МДА, мкмоль/л
Контроль	0,38 ± 0,02	0,49 ± 0,04	2,02 ± 0,11	0,050 ± 0,001
CCl ₄	9,41 ± 0,01*	9,83 ± 0,03*	4,56 ± 0,18*	0,23 ± 0,04*
CCl ₄ + [Re2 + цис-Pt]nlip (4 : 1)	1,62 ± 0,03 [#]	1,78 ± 0,02 [#]	2,21 ± 0,16 [#]	0,060 ± 0,001 [#]
CCl ₄ + [Re2 + цис-Pt]nlip (4 : 2)	2,91 ± 0,05 [#]	2,98 ± 0,03 [#]	2,64 ± 0,13 [#]	0,100 ± 0,002 [#]

* $P < 0,05$ відносно контролю; [#] $P < 0,05$ відносно CCl₄

У разі введення Re2 за інтоксикації ТХМ значення МДА суттєво не відрізняються від величин у нормі. Використання системи [Re2+цис-Pt] зі співвідношенням компонентів 4 : 1 та 4 : 2 знижує концентрацію МДА у гомогенаті тканин печінки в 2 рази та в 1,7 рази відповідно, а у плазмі — в 3,8 рази і в 2,3 рази порівняно з ТХМ групою. Одержані результати підтверджують той факт, що сполуки ренію виявляють антиоксидантні властивості, зменшуючи накопичення продуктів перексидного окислення ліпідів у разі отруєння ТХМ, знижуючи рівень їхнього токсичного впливу. Отже, комплексні сполуки ренію (III) можна використовувати для корекції станів, що супроводжуються активацією процесів ліпопероксидації.

Внутрішньочеревинне введення ТХМ спричинює зростання активності Asp-AT та Ala-AT в 24,9 рази і в 20,1 рази відповідно порівняно з контролем. Зниження рівня активності Asp-AT та Ala-AT спостерігається за використання сполуки [Re2+цис-Pt] (4:1) відповідно в 5,8 рази і в 5,5 рази відносно ТХМ-групи. Сполука [Re2+цис-Pt] (4 : 2) зменшує активність Asp-AT в 3,2 рази, а Ala-AT в 3,3 рази порівняно з ТХМ-групою. Зростання активності цих ензимів у плазмі крові у 23 рази для Asp-AT і в 19 разів для Ala-AT спостерігається і у разі введення шурам цисплатину під час розвитку пухлини (табл. 1). Також спостерігається тенденція до зниження активності Asp-AT в 6,3 рази і Ala-AT в 5,7 рази у плазмі крові шурав за введення системи [Re2+цис-Pt] (4 : 1). Збільшення кількості цисплатину всередині наноліпосом вдвічі, меншою мірою в 3,3

рази для Asp-AT і Ala-AT, знижує активність ензимів у плазмі крові. Некротична загибель клітин, що спостерігається за інтоксикації ТХМ, супроводжується порушенням цілісності плазматичних мембран, що призводить до втрати внутрішньоклітинних амінотрансфераз і активації вільнорадикальних процесів. Виражене зниження трансаміназної активності та вмісту ТБК-активних продуктів у плазмі крові отруєних тварин як показників ступеня пошкодження печінки, що спостерігається під час введення комплексних сполук ренію (III), очевидно, є свідченням зменшення кількості загиблих клітин. Зниження активності Asp-AT та Ala-AT плазми крові шурав у разі введення кластерних сполук ренію за канцерогенезу та токсичного гепатиту може вказувати на загальний механізм впливу цих сполук на мембрани клітин печінки.

Дослідження впливу сполук ренію і цисплатину на морфологічний стан печінки показали, що за розвитку пухлини T8 балочна структура печінки частково збережена (дані не наведено). Спостерігається зерниста дистрофія гепатоцитів центрів дольок та їхня атрофія. Судини повнокровні, присутня незначна перипортальна лімфогістіоцитарна інфільтрація. Місцями спостерігаються ступінчасті некрози, склероз незначно виражений. Інтенсивне цитолітичне порушення гепатоцитів, що відбувається під час розвитку пухлини, ще більше активується цисплатином. За його введення спостерігається виражене венозне повнокрів'я та виражена зерниста дистрофія гепатоцитів з атрофією гепатоцитів центральної зони дольок печінки (рис. 2, а).

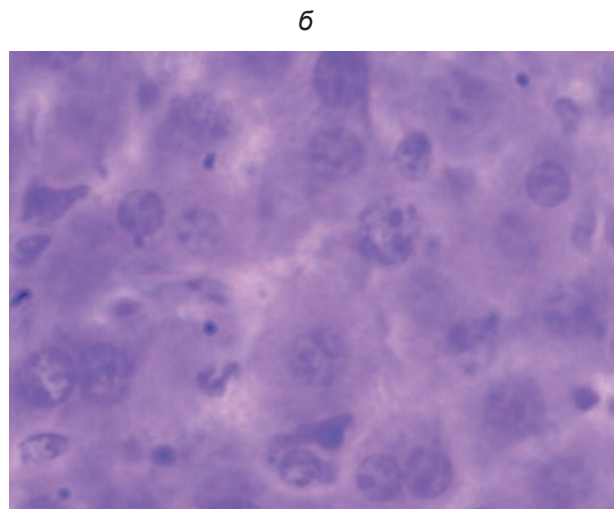
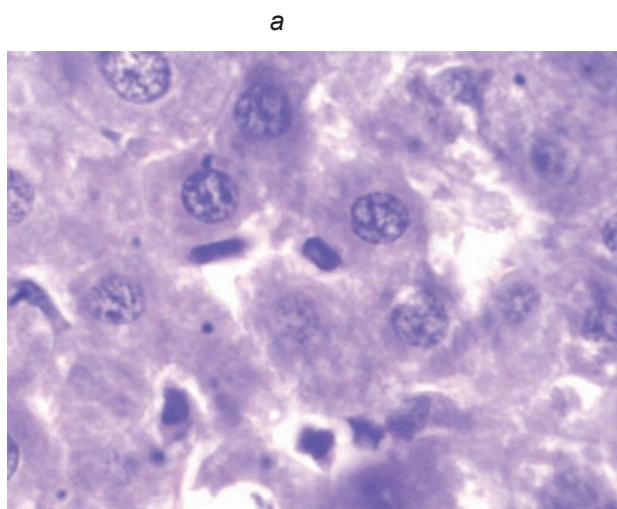


Рис. 2. Гістологічні мікропрепарати тканини печінки за використання цисплатину (а) та сполук ренію [Re+цис-Pt] (4 : 1) (б) ($\times 100$; гематоксилін-еозин)

Перипортальні простори Діссе розширені, знаходяться у стані набряку з помірною лімфоцитарною інфільтрацією. Спостерігається перипортальний некроз одиночних гепатоцитів зі слабкою та помірною запальною реакцією. Ядра гепатоцитів з мілкодисперсним хроматином, некроз і склероз тканин відсутні.

У більшості тварин із гострим токсичним гепатитом після застосування протипухлинної системи [Re₂+цис-Pt] (4 : 1) і (4 : 2) в наноліпосомній формі спостерігається тенденція до нормалізації структури печінки (рис. 2, б). Відновлена балочна будова, незначно виражена інфільтрація стромы органу круглоклітинними елементами, переважно в зоні загиблих гепатоцитів. Зустрічаються поодинокі мітози та виражена гіпертрофія ядер, що свідчить про посилення проліферативних процесів. Кількість некротизованих гепатоцитів незначна.

Отже, використання системи Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом, призводить до захисту клітин печінки, що підтверджується зниженням активності діагностичних ензимів у крові та нормалізацією морфологічного стану клітин печінки.

Сучасні дослідження ліпосомних форм антиканцерогенних препаратів довели перевагу ліпосом малого розміру – нановезикул, наноліпосом [12]. Точна доставка до високоспецифічної мішені вимагає мініатюризації препарату [31]. Меншу токсичність цисплатину частково можна пояснити можливим кращим транспортуванням мініатюрних карго (від англ. cargo – вантаж) до пухлини, ніж до інших органів, тобто спрямованим транспортом протипухлинних препаратів до мішеней. Підсилення гепатопротекторних функцій кластерних сполук ренію у наноліпосомній формі також може бути викликано їхньою активацією всередині везикули [32].

Ми припускаємо, що основним реакційним центром, що зумовлює гепатопротекторну активність диренієвих сполук, є почверний зв'язок між атомами ренію, який є пасткою для радикалів [33]. Шляхом вивчення електронних спектрів поглинання речовин, які містять почверний зв'язок, доведено, що різні структурні типи кластерних сполук ренію мають різну кількість гіперкон'югованих циклів навколо кластерного фрагмента Re₂⁶⁺ [15, 34, 35] (рис. 3).

Для дикарбоксилатів і тетракарбоксилатів диренію така гіперкон'югація можлива. Чим

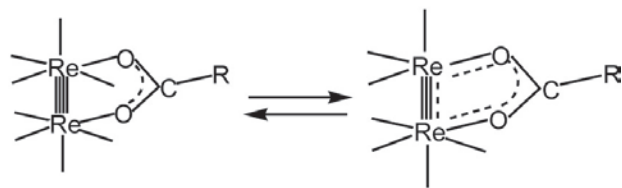


Рис. 3. Схема гіперкон'югації в 5-членному циклі в μ -карбоксилатах диренію (III)

більша кількість гіперкон'югованих кілець навколо почверного зв'язку (у тетракарбоксилатів їх чотири) та чим більше позитивний індуктивний ефект радикала (у Re₂ як у цис-дикарбоксилатів два гіперкон'югованих цикли, але значний ефект адамантильних радикалів), тим більша активність сполук як антиоксидантів та гепатопротекторів. Тобто, окрім наявності почверного зв'язку, який, сам по собі, є пасткою для радикалів, досліджені нами сполуки мають структурні особливості, що підсилюють їхні антирадикальні властивості.

Для адамантильної сполуки не виключено й інші механізми гепатопротекції, наприклад протизапальна дія, притаманна похідним адамантанкарбонової кислоти [36]. Висока ліпофільність та об'ємна структура адамантильного радикала за його введення у молекули різних біологічно активних сполук у значній мірі модифікує (підсилює) їхню фармакологічну дію. Таким чином була модифікована структура низки антимікробних, протипухлинних, імунодепресивних, гормональних, анальгетичних, протизапальних, нейротропних засобів [37], а також сполук, що впливають на ензиматичну систему печінки [36]. Припускають, що модифікація біологічної активності пов'язана зі зміною просторової будови, гідрофобності та ліпофільності сполук, завдяки сприятливим умовам їхнього транспортування через біологічні мембрани [37].

Отже, вперше показано, що введення протипухлинної системи Re-Pt щуромпухлиноносіям супроводжується зниженням активності ензимів крові, котрі вказують на пошкодження гепатоцитів, та нормалізацією морфологічного стану клітин печінки. Як відзначено вище, цисплатин є гепатотоксичною речовиною. Але введення цього необхідного для гальмування пухлини компонента разом із кластерними сполуками ренію з унікальними антиоксидантними функціями приводить до ефекту, який названо «біохімічна модуляція механізму дії цитостатиків» [38], тобто, до зниження токсичності і збережен-

ня, і навіть до підсилення, антиканцерогенної дії цисплатину. Безумовно, зниження активності вивчених ензимів крові не може бути наслідком стабілізації тільки клітин печінки, а для обґрунтованішого висновку про гепатопротекторні властивості сполук ренію необхідні додаткові дослідження. Проте представлена робота свідчить про перспективність використання кластерних сполук ренію як модуляторів цитостатиків у клінічній практиці.

ВЛИЯНИЕ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ СИСТЕМЫ РЕНИЙ–ПЛАТИНА НА БИОХИМИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ПЕЧЕНИ

*В. В. Івчук¹, Т. Н. Полишко¹,
А. А. Голиченко², А. В. Штеменко²,
Н. І. Штеменко¹*

¹Днепропетровский национальный университет имени Олеса Гончара, Украина;
²Украинский государственный химико-технологический университет, Днепропетровск;
e-mail: n.shtemenko@i.ua

Изучено влияние противоопухолевой системы рений-платина на биохимические показатели состояния печени в модели опухолевого роста (карцинома Герена) и показана возможная гепатопротекторная активность кластерных соединений рения при введении их в форме липосом, что подтверждается снижением в крови активности аминотрансфераз (АсАТ в 6 раз и АлАТ в 5,6 раза), лактатдегидрогеназы в 4,9 раза, γ -глутамилтранспептидазы в 3,6 раза и нормализацией морфологического состояния клеток печени по сравнению с цисплатиновой группой. Подтверждено вероятную гепатопротекторную активность соединения рения с адамантильным лигандом в модели острого токсического гепатита. Данное соединение снижает концентрацию МДА в гомогенате тканей печени в 2 раза, а в плазме – в 3,8 раза, уровень активности АсАТ и АлАТ соответственно в 5,8 и 5,5 раза по сравнению с контролем. Обсуждены некоторые аспекты механизма гепатопротекторного действия кластерных соединений рения, которые включают наличие конъюгированной системы вокруг четвертичной связи рений–рений и наличие алкильного радикала с существенным положительным индукционным эффектом.

Ключевые слова: печень, кластерные соединения рения, цисплатин, канцерогенез, токсический гепатит, гепатопротекторы.

INFLUENCE OF ANTITUMOR SYSTEM RHENIUM–PLATINUM ON BIOCHEMICAL STATE OF THE LIVER

*V. V. Ivchuk¹, T. N. Polishko¹,
O. A. Golichenko², O. V. Shtemenko²,
N. I. Shtemenko¹*

¹Oles' Gonchar Dnepropetrovsk National University, Ukraine;
²Ukrainian State University of Chemical Technology, Dnepropetrovsk;
e-mail: n.shtemenko@i.ua

Summary

Influence of the antitumour rhenium-platinum system on biochemical liver characteristics in the model of tumor growth (Guerin carcinoma) was studied and possible hepatoprotective activity of rhenium cluster compounds when introducing them in different forms was shown, that was confirmed by decreasing of diagnostic enzymes activity in blood (aminotransferase - AST 6 times and ALT 5.6 times, lactatedehydrogenase 4.9 times, γ -glutamyltranspeptidase 3.6 times) and normalization of morphological state of the liver cells. The hepatoprotective activity of the cluster rhenium compound with adamantyl ligands was confirmed in the model of acute toxic hepatitis. Introduction of this compound led to reduction of the concentration of MDA in homogenates of liver tissue (2 times), and in blood plasma (3.8 times); to reduction of levels of diagnostic liver enzymes in blood - AST and ALT 5.8 and 5.5 times respectively in comparison with control group. Some aspects of the mechanism of hepatoprotection were discussed, that included the presence of conjugated systems around the quadrupol rhenium-rhenium bond and alkyl radicals with significant positive inductive effects.

Key words: liver, rhenium cluster compounds, cisplatin, model of tumor growth, acute toxic hepatitis, hepatoprotectors.

1. Jakupec M. A., Galanski M., Arion V. B. // Dalton Trans. – 2008. – N 9. – P. 183.
2. Bruijninx P. C. A., Sadler P. J. // Cur. Opin. Chem. Biol. – 2008. – N 12. – P. 197.
3. Олійник С. А., Штеменко Н. І., Горчакова Н. О. та ін. // Соврем. пробл. токсикол. – 2001. – № 1. – С. 11–15.
4. Lu Y., Cederbaum A. I. // Toxicol. Sci. – 2006. – 89, N 2. – P. 515–523.
5. Liao Y., Lu X. // Pharmacol. Res. – 2008. – 57. – P. 125–131.
6. Ibrahim M. Y., Abdul A. B. // Res. J. Biol. Sci. – 2009. – 4, N 7. – P. 777–784.

7. *Avcı S., Cetin R.* // Turk J. Med. Sci. – 2008. – **38**, N 2. – P. 117–120.
8. *Gaskill C. L., Miller L. M.* // Vet. Pathol. – 2005. – **42**. – P. 147–160.
9. *Shtemenko N. I., Collery P., Shtemenko A. V.* // Anticancer Res. – 2007. – **27**, N 4. – P. 2487–2492.
10. *Shtemenko N. I., Collery P., Shtemenko A. V.* // Metal Ions in Biology and Medicine. John Libbey Eurotext. – 2008. – **10**. – P. 441–445.
11. *Shtemenko N., Moeder M., Kusch P.* // Chem. Biol. – 2009. – **4**. – P. 101–108.
12. *Івчук В. В., Черкашина Д. В., Петренко О. Ю. та ін.* // Вісн. проблем біології і медицини. – 2009. – **3**. – С. 23–29.
13. *Burger N. J.* // Nat. Med. – 2002. – **8**. – P. 81–84.
14. *Shtemenko A. V., Collery P., Shtemenko N. I.* // Dalton Trans. – 2009. – **26**. – P. 5132–5136.
15. *Голиченко А. А., Штеменко А. В.* // Координационная химия. – 2006. – № 4. – С. 252–260.
16. *Егорова Д. Е., Штеменко А. В.* // Вопр. химии и химической технологии. – 2010. – № 1. – С. 103–110.
17. *Егорова Д. Є.* Взаємодія біядерних кластерів ренію (III) з фосфоліпідами та вищими карбоновими кислотами за формування мікрокапсул Автореф. дис. ... канд. хім. наук. – Д. 2010. – 20 с.
18. *Тимофеевский А. Д.* Модели и методы эксперим. онкологии. – М: «Медгиз», 1960. – 245 с.
19. *Taylor S. K.* // Med. Hypothesis. – 2003. – N 1. – P. 89–93.
20. *Meerson F. Z., Evstigneeva M. E., Ustinova E. E.* // Pat. Physiol. Exp. Therap. – 1983. – N 5. – P. 25–29.
21. *Останчук Н. А.* // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1989. – **53**, № 10. – С. 447–449.
22. *Волкова О. В.* Основы гистологии с гистологической техникой. – М.: Медицина, 1971. – 272 с.
23. *Орехович В. Н.* Совр. методы в биохимии. – М.: Медицина, 1977. – 392 с.
24. *Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А.* // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 41–43.
25. *Меньшиков В. В.* Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1987. – 368 с.
26. *Лакин Г. Ф.* Биометрия. – М.: Высшая школа, 1990. – 352 с.
27. *Liu A., Jin H.* // Mediators Inflamm. – 2010. – **10**. – P. 561–570.
28. *Renjie L., Shidi S., Changsen S.* // Afr. J. Microbiol. Res. – 2010. – **4**, N 16. – P. 1784–1787.
29. *Калиман П. А., Охрименко С. М.* // Актуальные проблемы медицины и биологии. – 2003. – № 1. – С. 416–422.
30. *Fausto N.* // Hepatology. – 2000. – **32**, N 1. – P. 19–31.
31. *Hamelers I., Kroon A.* // Future Lipidol. – 2007. – **2**, N 4. – P. 445–453.
32. *Shtemenko N. I., Berzenina O. V., Yegorova D. E., Shtemenko A. V.* // Chem. Biodivers. – 2008. – **5**. – P. 1660–1667.
33. *Shtemenko A., Golichenko A., Tretyak S. et al.* // Metal Ions in Biology and Medicine. – Corsica, France. – 2008. – P. 229–234.
34. *Shtemenko A. V., Vovykin B. A.* Chemistry of binuclear Rhenium Clusters / Rhenium and Rhenium Alloys. – Pensilvania: TMS publication, 1997. – P. 189–197.
35. *Штеменко А. В.* // Укр. хим. журн. – 2008. – **74**, № 9. – С. 39–42.
36. *Морозов И. С.* Фармакология адамантанов. – Волгоград: Волгоградская мед. академия, 2001. – 320 с.
37. *Багрий Е. И.* Адамантаны: получение, свойства, применение. – М.: Наука, 1989. – 264 с.
38. *Fuertes M. A., Alonso C., Perez J. M.* Chemical Reviews 17.2 : A-R, 2002.

Отримано 21.02.2011