

УДК: 577.352.3+615.277.3+616-006.6+616.36

Вплив системи Рений-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв

О.С.Коновалова¹, С.О.Бабій², О.В.Штеменко³, Н.І.Штеменко⁴

¹ДЗ Дніпропетровська медична академія МОЗ України (Дніпро, Україна)

²ДУ Інститут гастроентерології Національної академії медичних наук України (Дніпро, Україна)

³ДЗ Український державний хіміко-технологічний університет (Дніпро, Україна)

⁴Інститут біохімії імені О.В.Палладіна Національної академії наук України (Київ, Україна)
kulinich.es@gmail.com

Досліджено вплив системи Рений-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв при розвитку резистентної до цисплатину пухлини (РКГ) та здійснено їхнє порівняння з параметрами печінки щурів при розвитку звичайної карциноми Герена (КГ). Показано, що введення сполуки Ренію сприяє нормалізації процесів вивільнення діагностичних ферментів в кров (енземії) та активації ферментів у тканині печінки. Показано, що за введення протипухлинної системи Рений-Платина в печінці пухлиноносіїв з РКГ відбувається інтенсивна активація гамма-глутамілового циклу сполуками Ренію у порівнянні із групою КГ. Введення системи Рений-Платина призводить до зниження активності радикальних процесів та підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту, концентрації глутатіону і активності ферментів глутатіонової ланки захисту в тканинах щурів з КГ, а особливо з РКГ, що може пояснити низький рівень ферментемії і гепатоцелюлярної дистрофії в печінці тварин-пухлиноносіїв. Запропоновано механізм дії потужних антиоксидантів з почверним зв'язком щодо гепатопротекції за участі глутатіонової системи та щодо регуляції оксидативного стресу організму щурів з резистентною до цисплатину пухлиною. Зроблено висновок про перспективність використання наноліпосомних форм кластерних сполук Ренію у антираковій терапії.

Ключові слова: печінка, звичайна і резистентна до цисплатину карцинома Герена, система Рений-Платина, цисплатин, енземія, глутатіонова система захисту, оксидативний стрес.

Влияние системы Рений-Платина на биохимические параметры печени крыс-опухоленосителей

Е.С.Коновалова, С.А.Бабий, А.В.Штеменко, Н.И.Штеменко

Исследовано влияние системы Рений-Платина на биохимические параметры печени крыс-опухоленосителей при развитии резистентной к цисплатину опухоли (РКГ) и проведено их сравнение с параметрами печени крыс при развитии обычной карциномы Герена (КГ). Показано, что введение соединения Рения способствует нормализации активности диагностических ферментов в крови и повышению активности ферментов в ткани печени. Показано, что при введении противоопухолевой системы Рений-Платина в печени опухоленосителей с РКГ происходит интенсивная активация гамма-глутамилового цикла соединениями рения по сравнению с группой КГ. Введение системы Рений-Платина приводит к снижению активности радикальных процессов и повышению активности ферментов антиоксидантной защиты, концентрации глутатиона и активности ферментов глутатионового звена защиты в тканях крыс с КГ, а особенно с РКГ, что может объяснить низкий уровень ферментемии и гепатоцеллюлярной дистрофии в печени животных-опухоленосителей. Предложен механизм действия мощных антиоксидантов с четвертичной связью в отношении гепатопротекции с участием глутатионовой системы, а также в отношении регуляции оксидативного стресса организма крыс с резистентной к цисплатину опухолью. Сделан вывод о перспективности использования наноліпосомних форм цитостатиків в антираковій терапії.

Ключевые слова: печень, обычная и резистентная к цисплатину карцинома Герена, система Рений-Платина, цисплатин, энземия, глутатионовая система защиты, оксидативный стресс.

The influence of the Rhenium-Platinum system on biochemical parameters of tumor-bearing rats' liver

O.S.Konovalova, S.O.Babiy, O.V.Shtemenko, N.I.Shtemenko

The influence of the Rhenium-Platinum system on biochemical characteristics of liver of tumor-bearing rats with cisplatin resistant Guerin carcinoma (RGC) was investigated and comparison with the parameters of rat liver with ordinary Guerin carcinoma (GC) was made. It was shown that introduction of rhenium compounds resulted in normalization of diagnostic enzymes activity in the blood (enzememia) and in activation of the

enzymes in the liver tissue. Administration of antitumor Rhenium-Platinum system led to activation of gamma-glutamyl cycle in the liver of rats' tissue with RGC in comparison with GC group. Introduction of the system reduced activity of radical processes and increased activity of antioxidant enzymes, concentration of glutathione and enzyme activity of the glutathione cycle protection in the tissues of rats with GC and especially in RGC. That may explain reducing of enzemia and hepatocellular distrophia. There was proposed a mechanism of action of powerful antioxidants with quadruple bond in regard to hepatoprotection regulation involving participation of the glutathione defense system and to oxidation stress regulation of rats whose bodies contain cisplatin-resistant tumor. The conclusion was drawn regarding the prospects of using nanoliposomatic forms of cytostatics in anticancer therapy.

Key words: *liver, ordinary and resistant to cisplatin Guerin carcinoma, Rhenium-Platinum system, cisplatin, enzemia, glutathione system of defense, oxidative stress.*

Вступ

У наших попередніх роботах (Івчук та ін., 2011) було показано, що сполуки Ренію з ізобутиратними лігандами призводили до гальмування процесів цитолізу клітин печінки та зниження активності ферментативних процесів тканин печінки за розвитку карциноми Герена та введення цисплатину (Кулініч та ін., 2013). Було запропоновано схему, що пояснювала можливу роль глутатіонової системи у гепатопротекторній функції сполук з почверним зв'язком та підкреслено можливу активацію роботи гамма-глутамілового циклу. Реній (Re) – це перехідний метал (атомний номер 75, атомна маса 186,21 г/моль), який має найбільш широкий діапазон ступенів окиснення, ніж будь-який відомий елемент: -1, +1, +2, +3, +4, +5, +6, +7. Однією з унікальних особливостей цього елемента є здатність до утворення почверного біметалічного Re-Re зв'язку, відсутнього серед природних молекул. Почверний зв'язок утворений одним σ -, двома π - і одним δ -зв'язками. Саме δ -зв'язок, що може бути утворений тільки перекриванням у певному напрямку d-орбіталей електронів перехідних металів, обумовлює значні антиоксидантні, антигемолітичні, гепато- і нефро-протекторні властивості сполук Ренію з органічними лігандами. Як синтез більшості сполук Ренію, так і дослідження біохімічних властивостей сполук Ренію з почверним зв'язком є пріоритетом України (Штеменко и др., 2001; Shtemenko et al., 2007, 2013).

Також було показано різний біохімічний стан печінки щурів за розвитку звичайної (КГ) і резистентної (РКГ) карциноми Герена (Кулініч, Штеменко, 2015; Коновалова, 2016). На основі дослідження явища енземії, активації ферментів тканини та параметрів оксидативного стресу було показано різну ступінь пошкодження тканин печінки щурів з КГ і РКГ, як у процесі розвитку новоутворення, так і за введення цисплатину. Для тканин печінки щурів з РКГ практично відсутнє підвищення активності ферментів (за виключенням гамма-глутамілтранспетидази) як за росту новоутворення, так і за введення цисплатину. Низька активність радикальних процесів, які обумовлюють перекисне окиснення ліпідів, висока активність ферментів антиоксидантного захисту і глутатіонового циклу та високий вміст глутатіону в тканинах печінки щурів з РКГ у порівнянні з КГ може пояснити відсутність або низький рівень ферментемії і пошкодження гепатоцитів за розвитку новоутворення і введення цисплатину (сPt). Також у роботах нашої групи було показано, що протипухлинна система Реній-Платина (Re+cPt) – система введення сPt і сполук Ренію – була ефективною щодо гальмування росту як звичайного штаму КГ (Li et al., 2015; Shtemenko et al., 2013), так і резистентного до цисплатину РКГ (Грабовська та ін., 2014).

Отже, метою роботи і наступним етапом нашого дослідження було дослідити біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв при розвитку звичайної та резистентної карциноми Герена та за введення системи Реній-Платина.

Об'єкт та методи дослідження

Досліджувалася сполука цис-диізобутиратодиреній(III)тетрахлорид – $(\text{Re}_{\text{cis}}\text{isobyt})$ – $\text{cisRe}_2(\text{iC}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4$. Сполука та наноліпосомні форми препаратів синтезувалися на кафедрі неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету (м. Дніпро, Україна) (Штеменко и др., 2001).

Експеримент проводили на щурах лінії Wistar вагою 100–150 г, яким перещеплювали підшкірно в ліву задню ногу звичайну карциному Герена (0,5 мл 20% суспензії клітин пухлини у фізіологічному розчині) (Тимофеевский, 1960) та резистентну карциному Герена. Штами клітин було отримано з Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є.Кавецького НАН України. Маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до правил

«Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1985 р.). Цисплатин (сPt) вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на 9 добу після трансплантації пухлини у розчині (сPt). Тварини були розділені на 7 груп (по 6 щурів у кожній): 1 – інтактні тварини (Контроль); 2 – тварини з карциномою Герена Т8 (КГ); 3 – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили цисплатин у вигляді наноліпосом (КГ+[сPt]nl); 4 – тварини з карциномою Герена Т8, яким вводили систему Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом (nl) розміром 10–100 нм, навантажених цисплатином та сполукою Ренію у співвідношенні компонентів 4:1 (КГ+[Recisob+сPt]nl); 5 – тварини з резистентною карциномою Герена (РКГ); 6 – тварини з резистентною карциномою Герена Т8, яким вводили цисплатин у вигляді наноліпосом (РКГ+[сPt]nl); 7 – тварини з резистентною карциномою Герена, яким вводили систему Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом (nl) розміром 10–100 нм, навантажених цисплатином та сполукою Ренію у співвідношенні компонентів 4:1 (РКГ+[Recisob+сPt]nl);

На 21 день після трансплантації пухлини проводили декапітацію щурів під етерним наркозом.

Визначення біохімічного стану плазми крові та печінки щурів проводили за змінами активності аланінамінотрансферази (АлАТ) та аспартатамінотрансферази (АсАТ) за методом (Reitman, Frankel, 1957), лактатдегідрогенази (ЛДГ) і гамма-глутамілтрансфетидази (ГГТП) з використанням стандартних лабораторних методик і тест-наборів (Реагент, Україна, м. Дніпропетровськ), за методами (Murata et al., 2004).

Рівень ТБК-активних продуктів визначали у гомогенаті печінки за методикою Андреевої (Андреева, 1988), вміст відновленого глутатіону (GSH) за (Hayakawa et al., 2003), активність глутатіон-S-трансферази (ГТ), глутатіонредуктази (ГР), глутатіонпероксидази (ГП) за (Медицинские..., 2002), активність супероксиддисмутази (СОД) за (Чевари і др., 1988), активність каталази (Кат) за (Королук, 1988).

Статистичний аналіз отриманих даних проводили в Microsoft Excel з визначенням ймовірних відмінностей з використанням t-критерію Стьюдента (Лакин, 1990).

Результати та обговорення

У процесі розвитку як звичайної, так і резистентної пухлини відмічалось явище енземії, на що вказує збільшення активності діагностичних ензимів в плазмі крові щурів порівняно з контролем (табл. 1).

Таблиця 1.

Активність ферментів плазми крові щурів (Од/л, М±m; n=6)

Групи	АсАТ	АлАТ	ЛДГ	ГГТП
Контроль	6,98±0,37	5,92±0,37	19,86±0,76	0,82±0,06
КГ	17,83±1,90*	14,80±1,04*	64,94±2,09*	3,93±0,11*
КГ+[сPt]nl	11,01±0,67#	7,10±0,60#	19,10±2,60#	1,3±0,05#
КГ+[Recisob+сPt]nl	8,27±0,26#	6,04±0,68#	15,60±1,07#	5,09±0,62#
РКГ	10,85±0,60*	5,49±0,22	12,42±1,07*	4,53±0,50*
РКГ+[сPt]nl	10,96±0,78	9,09±1,12##	24,38±1,61##	5,33±0,18
РКГ+[Recisob+сPt]nl	8,51±0,71##	5,84±0,90	12,92±2,53	6,93±1,39##

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Як відмічалось у вступі, розвиток РКГ призводив до менш вираженої гепатотоксичності, ніж розвиток КГ. Так, активність ензимів плазми крові за розвитку КГ збільшувалася: АсАТ у 2,6 раза, АлАТ у 2,5 раза, ЛДГ у 3,3 раза, ГГТП у 5 разів, а при розвитку РКГ не спостерігалось суттєвого підвищення жодного ферменту, окрім ГГТП (у 5,5 раза), активність якого була підвищена практично на такому самому рівні, як у групі КГ, у порівнянні з контрольною групою. Більше того, активність ЛДГ у плазмі крові щурів з РКГ була нижчою, ніж у плазмі щурів контрольної групи (на 60%) (Коновалова, 2016).

При застосуванні наноліпосомної форми цисплатину активність ензимів знижувалася: АсАТ у 1,6 раза, АлАТ у 2 рази, ЛДГ у 3,4 раза, ГГТП у 3 рази порівняно з групою КГ. При розвитку РКГ,

навпаки, спостерігалось збільшення активності досліджуваних параметрів: АлАТ у 1,7 раза, ЛДГ у 2 рази, ГГТП у 1,2 раза, а АсАТ суттєво не змінилась.

Введення системи Реній-Платина знижувало активність усіх діагностичних ензимів в обох групах щурів-пухлиноносіїв, за виключенням ГГТП в групі РКГ+[Recisisob+cPt]nl. Так, при розвитку КГ: АсАТ у 2,2 раза, АлАТ у 2,5 раза, ЛДГ у 4 рази. При розвитку РКГ: АсАТ у 1,3 раза, АлАТ та ЛДГ у 1,1 раза, при цьому в обох експериментальних групах активність ГГТП збільшилась: в групі з КГ у 1,3 раза, а в групі щурів з РКГ у 1,5 раза у порівнянні з групами щурів-пухлиноносіїв. Це значно відрізняє вплив системи Реній-Платина від впливу цисплатину.

Слід відмітити, що активність ензимів за введення системи Реній-Платина у плазмі крові щурів з РКГ має приблизно такий самий рівень, як і у щурів з КГ, і близький до контрольних значень, тобто сприяє нормалізації процесу ензимів у пухлиноносіїв. Оскільки це явище більш інтенсивне у КГ-носіїв, то в цих групах відбувається більш ефективний вплив системи Реній-Платина на біохімічний стан печінки. Зниження активності діагностичних ферментів в крові пухлиноносіїв під впливом системи Реній-Платина відбувається більш ефективно, ніж під впливом цисплатину (Коновалова, 2016).

Наступним етапом дослідження став аналіз впливу системи Реній-Платина на біохімічні показники тканин печінки експериментальних тварин (табл. 2).

Таблиця 2.

Активність ферментів тканин печінки щурів (Од/г тканини, $M \pm m$; $n=6$)

Групи	АсАТ	АлАТ	ЛДГ	ГГТП
Контроль	11,94±0,19	9,18±0,46	42,78±8,49	2,73±0,20
КГ	22,48±1,73*	16,58±0,41*	61,12±2,70*	3,05±0,54
КГ+[cPt]nl	12,71±0,58#	9,10±0,19#	44,31±2,59#	3,19±0,13
КГ+[Recisisob+cPt]nl	13,26±0,28#	12,18±2,55	40,10±1,39#	5,60±0,32#
РКГ	13,44±1,81	11,61±0,06*	43,14±2,54	9,58±0,05*
РКГ+[cPt]nl	23,81±1,07##	14,43±0,38##	36,02±1,41##	6,75±0,67##
РКГ+[Recisisob+cPt]nl	14,51±0,71	11,7±0,20	34,11±0,65##	10,36±1,56

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Введення системи Реній-Платина в обох експериментальних групах зменшувало активність амінотрансфераз на 70% та 36%, проте вона не досягала значень норми. Активність ЛДГ у тканині печінки щурів з РКГ була нижчою, ніж у щурів контрольної групи (на 26%), а в тканині печінки з КГ наближалася до контрольних значень. Активність ГГТП в групі РКГ+[Recisisob+cPt]nl була вища за рівень норми. В тканині печінки щурів з РКГ, на відміну від КГ, відбувається активація цього ензиму. Так, активність ГГТП в тканині печінки щурів-пухлиноносіїв з КГ перевищує таку в контрольній групі у 1,1 раза, а в групі РКГ у 3,5 раза.

Отже, показано односпрямований вплив системи Реній-Платина на активність амінотрансфераз крові як діагностичних ферментів, що характеризують ступінь ушкодження гепатоцитів. А також на активність цих ферментів в тканині печінки щурів-пухлиноносіїв, що характеризує активацію процесу транс-амінування під впливом екзогенних речовин. Знайдено, що за введення системи відбувається зниження активності ЛДГ як в крові, так і в тканині печінки щурів-пухлиноносіїв, проте для групи із звичайною карциномою відбувається нормалізація рівня активності цього ферменту, а для групи із резистентною пухлиною це зниження нижче за норму у 1,3 раза. Доведено, що в печінці пухлиноносіїв з резистентною карциномою відбувається активація гамса-глутамілового циклу сполуками Ренію.

Незважаючи на те, що КГ і РКГ є зручними експериментальними моделями для дослідження ефективності антиканцерогенних препаратів і виникнення явища резистентності, редокс стан печінки у цих моделях не вивчався, за виключенням окремих робіт (Хіміч та ін., 2011). Дослідженнями нашої групи показано, що, поряд із більш повільним розвитком РКГ у порівнянні з КГ, у крові тварин з РКГ знайдено меншу концентрацію кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (Грабовська та ін., 2014). Таке саме явище ми спостерігаємо і у тканинах печінки (табл. 3).

Розвиток КГ викликав значне підвищення (на 85%) інтенсивності процесу перекисного окиснення ліпідів в печінці щурів-пухлиноносіїв, а в групі щурів з РКГ на 44%. Введення ліпосомальної форми цисплатину в групі КГ знижувало рівень ТБК-активних продуктів на 66%, а в групі РКГ зниження концентрації ТБК-активних продуктів не відбувалось. Це можна пояснити різним механізмом розвитку штамів карциноми, провідною роллю радикальних процесів у розвитку новоутворень (Novo, Parola, 2008) та у формуванні резистентності до лікарських препаратів (Кулик и др., 2009). Введення системи Реній-Платина призводило до більш ефективного гальмування процесу перекисного окиснення ліпідів в обох групах пухлиноносіїв. Так, у групі КГ+[Recisisob+cPt]nl рівень ТБК-активних продуктів знижувався на 88%, а в групі РКГ+[Recisisob+cPt]nl на 48%. Це можна пояснити потужною антиоксидантною властивістю сполук Ренію (Шамелашвілі, 2016) завдяки наявності у їхній структурі почверного зв'язку.

Таблиця 3.

Параметри оксидативного стресу у тканині печінки щурів

Групи	ТБК, ммоль/г тканини	GSH, мкМ/г тканини	СОД, Од/г протеїну	Кат, Од/г протеїну
Control	1,37±0,27	0,78±0,02	198,82±10,42	78,14±5,18
КГ	2,50±0,50*	0,07±0,01*	150,44±11,23*	64,36±4,23*
КГ+[cPt]nl	1,50±0,22#	1,20±0,14#	232,10±12,54#	49,95±1,92#
КГ+[Recisisob+cPt]nl	1,09±0,14#	2,34±0,43#	298,07±15,96#	73,26±7,69
РКГ	1,97±0,22	0,97±0,03*	251,18±12,52*	84,18±5,23
РКГ+[cPt]nl	2,06±0,56	2,17±0,52##	272,11±16,54	107,89±9,97##
РКГ+[Recisisob+cPt]nl	1,33±0,32	3,24±0,04##	318,30±20,96##	145,94±10,52##

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P<0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P<0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P<0,05$).

Слід звернути увагу на відносно високий вміст глутатіону (GSH) у тканині печінки тварин з РКГ у порівнянні з групою КГ: за розвитку КГ відбувається зниження вмісту GSH практично у 11 разів, а розвиток РКГ супроводжується статистично достовірним підвищенням GSH на 24%. Введення цисплатину призводить до підвищення вмісту глутатіону в печінці обох груп щурів-пухлиноносіїв, у групі КГ+[cPt]nl у 17 разів, у групі РКГ+[cPt]nl у 2 рази. Введення системи Реній-Платина призводить до більш ефективного збільшення вмісту GSH: у групі щурів з КГ у 33 рази, а в групі щурів з РКГ у 3 рази. Підвищений рівень GSH може бути пов'язаний з активацією ГГТП – прискорюється процес вивільнення компонентів глутатіону для синтезу його *de novo* (Кулініч та ін., 2013).

Як показано раніше (Коновалова, 2016; Кулініч, Штеменко, 2015), у тканині печінки щурів з РКГ спостерігається більша активність ферментів антиоксидантного захисту, ніж в групах з КГ, та різний відгук ферментативних систем на введення цисплатину. Так, розвиток КГ призводить до дезактивації СОД на 32%, Кат на 21%, а розвиток РКГ – до активації СОД на 26%, Кат на 7,7% у порівнянні з контролем. Введення цисплатину призводило до активації СОД в КГ на 54%, в РКГ – на 8%; до дезактивації Кат в КГ на 28% та до активації Кат в РКГ на 28%. Введення системи Реній-Платина, на відміну від введення цисплатину, призводить до активації обох ферментів: в групі щурів з КГ СОД – на 98%, Кат – на 14%, а в групі щурів з РКГ СОД – на 27%, Кат – на 73%. Отже, зниженням активності радикальних процесів, що обумовлюють перекисне окиснення ліпідів, можна пояснити низький рівень ферментемії і гепатоцелюлярної дистрофії в печінці тварин-пухлиноносіїв; а також підвищенням активності ферментів антиоксидантного захисту в тканинах щурів з КГ, а особливо щурів з РКГ. Якщо такий процес відбувається не тільки в печінці, то така дія системи Реній-Платина може пояснити її здатність ефективного гальмування як звичайної, так і резистентної до цисплатину пухлини.

Активність ферментів глутатіонового захисту пригнічується при розвитку КГ. Так, активність ГП зменшується у 4 рази, ГТ у 3,6 рази, ГР у 4,4 рази (табл. 4).

Натомість, в тканинах печінки щурів з РКГ активність цих ферментів зберігається на високому рівні і навіть перебільшує контрольні значення. Введення цисплатину в наноліпосомній формі в

групі щурів з КГ також призводило до зниження практично усіх досліджуваних ферментів, а в групі РКГ активність ферментів достовірно не змінюється відносно РКГ. За введення системи Реній-Платина відмічалось збільшення активності ферментів глутатіонового захисту. Так в групі КГ активність ГП збільшується в 4 рази, ГТ в 4 рази, ГР в 4,4 рази, в тканинах печінки щурів з РКГ активність цих ферментів зберігається на високому рівні і навіть перебільшує контрольні значення. Отже, як і слід було очікувати, введення системи Реній-Платина призводило до активації ферментів глутатіонового захисту в тканині печінки обох груп пухлиноносіїв, на відміну від ефекту одного цисплатину, введеного у тій самій концентрації, що і в системі Реній-Платина. Тобто активуючі ефекти належать сполуці Ренію, як підкреслювалося вище.

Таблиця 4.

Активність глутатіон-залежних ферментів у тканині печінки (ммоль/год на мг протеїну)

Групи	ГП	ГТ	ГР
Control	2,18±0,06	8,14±0,32	2,15±0,11
КГ	0,56±0,07*	2,28±0,18*	0,49±0,24*
КГ+[cPt]nl	0,24±0,08#	3,58±0,22#	0,58±0,18
КГ+[Recisob+cPt]nl	2,64±0,14#	9,28±1,38#	2,54±1,24#
РКГ	2,24±0,12	7,78±0,16	2,08±0,12
РКГ+[cPt]nl	2,42±0,18	6,98±1,02	2,16±0,16
РКГ+[Recisob+cPt]nl	2,28±0,11	8,64±1,14	3,44±1,28##

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з контролем ($P < 0,05$); # – достовірна різниця порівняно з групою КГ ($P < 0,05$); ## – достовірна різниця порівняно з групою РКГ ($P < 0,05$).

Отже, отримані дані порівняльного дослідження впливу системи Реній-Платина на біохімічні характеристики печінки щурів-пухлиноносіїв з КГ і РКГ дозволяють підтвердити запропонований нами механізм дії кластерних сполук Ренію як потужних антиоксидантів, а саме: в клітинах печінки існує два шляхи для знешкодження пероксиду водню – каталазна і глутатіонпероксидазна реакції. Вірогідно, сполука $Re_{cisisobyt}$ взаємодіє з радикалами за типом супероксиддисмутазної або каталазної реакції, або й раніше, з супероксиданіоном O_2^- . Внаслідок цього глутатіонпероксидазна реакція гальмується субстратно – відсутністю пероксиду водню, і глутатіон може здійснювати більш ефективну детоксикацію cPt, утворюючи кон'югат: $GSH + cPt \rightarrow GS-cPt$. Тобто гальмування пероксидного стресу сполукою Ренію призводить до більш інтенсивної детоксикаційної функції печінки пухлиноносіїв шляхом вивільнення глутатіону з глутатіонпероксидазної реакції. Такий перебіг реакцій здійснюється в печінці пухлиноносіїв з КГ і РКГ, що пояснюється активацією антиоксидантних ферментів ренієвими сполуками. Гамма-глутаміловий цикл працює в печінці щурів з РКГ більш інтенсивно, ніж з КГ, що пояснюється активацією ГТП та призводить до підвищеного рівня глутатіону.

Висновки

Вперше досліджено вплив системи Реній-Платина на біохімічні параметри печінки щурів-пухлиноносіїв за розвитку резистентної до цисплатину пухлини та здійснено їхнє порівняння з параметрами печінки щурів за розвитку звичайної карциноми.

Одночасно із ефективним гальмуванням звичайної і резистентної пухлини введення сполуки Ренію сприяє нормалізації процесів вивільнення діагностичних ферментів в кров (енземії) та нормалізації активності ферментів у тканині печінки.

Знайдено, що за введення протипухлинної системи Реній-Платина в печінці пухлиноносіїв з резистентною карциномою відбувається активація гамма-глутамілового циклу сполуками Ренію у порівнянні із звичайним штамом.

Введення системи Реній-Платина призводить до зниження активності радикальних процесів та підвищення активності ферментів антиоксидантного захисту, концентрації глутатіону і активності ферментів глутатіонової ланки захисту в тканинах щурів з КГ, а особливо з РКГ, що може пояснити низький рівень ферментемії і гепатоцелюлярної дистрофії в печінці тварин-пухлиноносіїв.

Вірогідно, це може пояснити здатність протипухлинної системи Реній-Платина до зняття резистентності до цисплатину.

Вперше запропоновано механізм дії потужних антиоксидантів з почверним зв'язком щодо гепатопротекції при участі глутатіонової системи та, можливо, щодо зняття резистентності пухлин до цисплатину.

Список літератури

- Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело. – 1988. – №2. – С. 41–43. /Andreyeva L.I. Modifikatsiya metoda opredeleniya perekisey lipidov v teste s tiobarbiturovoy kislotoy // Laboratornoye delo. – 1988. – №2. – С. 41–43./
- Грабовська О.І., Кириченко С.В., Штеменко Н.І. Інтенсивність оксидативного стресу крові щурів за розвитку карциноми Герена та введення цисплатину // Медична хімія. – 2014. – Т.16, №2 (59). – С. 42–46. /Grabovs'ka O.I., Kyrychenko S.V., Shtemenko N.I. Intensyvnynt' oksydatyvnoho stresu krovi shchuriv za rozvytku kartsynomy Gerena ta vvedennya tsysplatynu // Medychna khimiya. – 2014. – Т.16, №2 (59). – С. 42–46./
- Івчук В.В., Полішко Т.М., Голіченко О.А. та ін. Вплив протипухлинної системи реній-платина на біохімічний стан печінки // Український біохімічний журнал. – 2011. – Т.83, №3. – С. 76–84. /Ivchuk V.V., Polishko T.M., Golichenko O.A. ta in. Vplyv protypukhlynnoyi systemy reniy-platyna na biokhimichnyy stan pechinky // Ukrayins'kyy biokhimichnyy zhurnal. – 2011. – Т.83, №3. – С. 76–84./
- Коновалова О.С., Бабій С.О., Штеменко О.В., Штеменко Н.І. Біохімічна характеристика стану печінки щурів-пухлиноносіїв за розвитку звичайної та резистентної карциноми Герена і введення цисплатину // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Т.1, №131. – С. 101–105. /Konvalova O.S., Babiy S.O., Shtemenko O. V. Biokhimichna kharakterystyka stanu pechinky shchuriv-pukhlynonosiyiv za rozvytku zvychnoyi ta rezystentnoyi kartsynomy Gerena i vvedennya tsysplatynu // Visnyk problem biologiyi i medytsyny. – 2016. – Т.1, №131. – С. 101–105./
- Корольук М.А. Способ определения активности каталазы // Лабораторное дело. – 1988. – №1. – С. 6–19. /Korolyuk M.A. Sposob opredeleniya aktivnosti katalazy // Laboratornoye delo. – 1988. – №1. – С. 6–19./
- Кулініч О.С., Дьомшина О.О., Штеменко Н.І. Модуляція гепатотоксичності цисплатину кластерними сполуками ренію (III) у моделі канцерогенезу // Медична хімія. – 2013. – Т.15, №3 (56). – С. 21–26. /Kulinich O.S. Modulyatsiya hepatotoksychnosti tsysplatynu klasternymy spolkukamy reniyu (III) u modeli kantserogenezu // Medychna khimiya. – 2013. – Т.15, №3 (56). – С. 21–26./
- Кулініч О.С., Штеменко Н.І. Вплив ліпосомальної та розчинної форми цисплатину на стан печінки щурів за умови карциноми Герена // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2015. – Вип.69. – С. 57–64. /Kulinich O.S., Shtemenko N.I. Vplyv liposomal'noyi ta rozchynnoyi formy tsysplatynu na stan pechinky shchuriv za umovy kartsynomy Gerena // Visnyk L'vivs'kogo universytetu. Seriya biologichna. – 2015. – Vyp.69. – С. 57–64./
- Кулик Г.І., Пивнюк В.М., Носко М.М. Липосомальные препараты: путь к преодолению лекарственной устойчивости к цисплатину // Онкология. – 2009. – Т.11, №1. – С. 76–80. /Kulik G.I., Pivnyuk V.M., Nosko M.M. Liposomalnyye preparaty: put' k preodoleniyu lekarstvennoy ustoychivosti k tsisplatynu // Onkologiya. – 2009. – Т.11, №1. – С. 76–80./
- Лакин Г.Ф. Биометрия. – Москва: Высшая школа, 1990. – 352с. /Lakin G.F. Biometriya. – Moskva: Vysshaya shkola, 1990. – 352s./
- Медицинские лабораторные технологии. Справочник в 2-х т. / Под ред. А.И.Карпищенко. – Санкт-Петербург: Интермедика, 2002. – 600с. /Meditsinskiye laboratornyye tekhnologii. Spravochnik v 2-kh t. / Pod red. A.I.Karpishchenko. – Sankt-Peterburg: Intermedika, 2002. – 600s./
- Тимофеевский А.Д. Модели и методы экспериментальной онкологии. – М.: Медгиз, 1960. – 245с. /Timofeyevskiy A.D. Modeli i metody eksperimental'noy onkologii. – M.: Medgiz, 1960. – 245s./
- Хіміч М.В., Раєцька Я.Б., Строщка Є.А. та ін. Вплив препарату «ГРІНІЗАЦІЯ ГРІН R» на злоякісний ріст у щурів з карциномою Герена, а також з резистентною формою карциноми Герена // Фізика живого. – 2011. – Т.19, №2. – С. 35–38. /Khimich M.V., Rayets'ka Ya.B., Strots'ka Ye.A. ta in. Vplyv preparatu «GRINIZATsIYa GRIN R» na zloyakisnyy rist u shchuriv z kartsynomoyu Gerena, a takozh z rezystentnoyu formoyu kartsynomy Gerena // Fyzyka zhyvogo. – 2011. – Т.19, №2. – С. 35–38./
- Чевари С., Чаба І., Сеней І. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и методы ее определения в биологическом материале // Лабораторное дело. – 1988. – №11. – С. 678–681. /Chevari S., Chaba I., Seney I. Rol superoksiddismutazy v oksislitelnykh protsessakh kletki i metodyi yeye opredeleniya v biologicheskom materiale // Laboratornoye delo. – 1988. – №11. – С. 678–681./
- Шамелашвілі К.Л., Штеменко Н.І., Леус І.В. та ін. Зміни інтенсивності оксидативного стресу крові щурів-пухлиноносіїв за введення системи реній-платина різними способами // Український біохімічний журнал. – 2016. – Т.88, №4. – С. 29–39. /Shamelashvili K.L., Shtemenko N.I., Leus I.V. ta in. Zminy intensyvnosti oksydatyvnoho stresu krovi shchuriv-pukhlynonosiyiv za vvedennya systemy reniy-platyna riznymy sposobamy // Ukrayins'kyy biokhimichnyy zhurnal. – 2016. – Т.88, №4. – С. 29–39./

- Штеменко А.В., Голиченко А.А., Семёнова И.Г., Вербицкая Я.С. Синтез и свойства цис-тетрагалогено-ди-карбоксилатных производных дирения(III) с адамантанкарбоновыми кислотами // Вопросы химии и хим. технологии. – 2001. – №4. – С. 31–34. /Shtemenko A.V., Golichenko A.A., Semyenova I.G., Verbitskaya Ya.S. Sintez i svoystva tsis-tetragalogeno-di-karboksilatnykh proizvodnykh direniya(III) s adamantankarbonovymi kislotami // Voprosy khimii i khim. tekhnologii. – 2001. – №4. – S. 31–34./
- Hayakawa J., Depatie C., Ohmichi M. The activation of c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) by DNA-damaging agents serves to promote drug resistance via activating transcription factor 2 (ATF2)-dependent enhanced DNA repair // Biol. Chem. – 2003. – No 278. – P. 82–92.
- Li Zhanyong, Shtemenko N.I., Yegorova D.Y. et al. Liposomes loaded with a dirhenium compound and cisplatin: preparation, properties and improved in vivo anticancer activity // Journal of Liposome Research. – Vol.25 (1). – 2015. – P. 78–87.
- Murata T., Haisa M., Uetsuka H. et al. Molecular mechanism of chemoresistance to cisplatin in ovarian cancer cell lines // International Journal of Molecular Medicine. – 2004. – Vol.13, no 6. – P. 865–868.
- Novo E., Parola M. Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis // Fibrogenesis & Tissue Repair. – 2008. – No 1. – P. 1–58.
- Reitman S., Frankel S. A colorimetric method for the determination of serum glutamic oxalacetic and glutamic pyruvic transaminases // American Journal of Clinical Pathology. – 1957. – No 28. – P. 56–63.
- Shtemenko N.I., Domasevitch K., Golichenko A. et al. Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III) // Journal of Inorganic Biochemistry. – 2013. – Vol.129. – P.127–134.
- Shtemenko N.I., Collery P., Shtemenko A.V. Dichlorotetra-m-isobutiratodirhenium (III): Enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties // Anticancer Res. – 2007. – Vol.27, no 4. – P. 2487–2492.

Представлено: Ю.С.Воронкова / Presented by: Yu.S.Voronkova

Рецензент: Г.В.Ганусова / Reviewer: G.V.Ganusova

Подано до редакції / Received: 07.10.2016