

УДК 546.719:616-018

Г. С. Кононова, С. В. Антонюк, Н. І. Штеменко

*Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара
Міський онкологічний центр м. Дніпропетровськ*

ВПЛИВ РЕНІЙ-ПЛАТИНОВОЇ СИСТЕМИ У ВИГЛЯДІ НАНОЛІПОСОМ НА ПРОЛІФЕРАТИВНУ АКТИВНІСТЬ РАКОВИХ КЛІТИН

Показано, що реній-платинова система у вигляді наноліпосом за різних умов введення знижувала проліферативну активність ракових клітин карциноми Герена. Уведення сполук ренію та цисплатину змінювало морфологічні показники пухлинної тканини. Індекс патологічних мітозів знизився в 3,0–3,6 рази порівняно з контрольною групою. Кількість PCNA-позитивних клітин під дією лише цисплатину становила близько 90 %, а за умов введення ренієвих сполук знизилась до 82,5–84,5 %. Використання реній-платинової системи спричиняло переважання індексу апоптозу над індексом некрозу. Найефективнішою виявилась сполука ренію з цисадамантильним лігандом $cis-Re_2(C_{10}H_{15}COO)_2Cl_4 \cdot 2DMSO$ при одноразовому введенні цисплатину.

А. С. Кононова, С. В. Антонюк, Н. І. Штеменко

*Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара
Городской онкологический центр г. Днепропетровск*

ВЛИЯНИЕ РЕНИЙ-ПЛАТИНОВОЙ СИСТЕМЫ В ВИДЕ НАНОЛИПОСОМ НА ПРОЛИФЕРАТИВНУЮ АКТИВНОСТЬ РАКОВЫХ КЛЕТОК

Показано, что реній-платиновая система в виде наноліпосом при разных условиях введения снижала пролиферативную активность раковых клеток карциномы Герена. Введение соединений рения и цисплатина изменяло морфологические показатели опухолевой ткани. Индекс патологических митозов снизился в 3,0–3,6 раза по сравнению с контрольной группой. Количество PCNA-положительных клеток под действием только цисплатина составляло около 90 %, а при условии введения рениевых соединений снизилось до 82,5–84,5 %. Использование реній-платиновой системы вызывало преобладание апоптического пути гибели клеток над некротическим. Наиболее эффективным оказалось соединение рения с цисадамантильным лигандом $cis-Re_2(C_{10}H_{15}COO)_2Cl_4 \cdot 2DMSO$ при одноразовом введении цисплатина.

G. S. Kononova, S. V. Antonuk, N. I. Shtemenko

*Oles' Honchar Dnipropetrovsk National University
Dnipropetrovsk Center of Oncology*

INFLUENCE OF THE RHENIUM-PLATINUM SYSTEM AS NANOLYPOSOMES ON THE PROLIFERATIVE ACTIVITY OF CANCER CELLS

Decrease of proliferative activity of the cells of Guerin's carcinoma T8 in the different conditions of administration of the Rhenium-Platinum anti-tumour system as nanolyposomes is shown. The Rhenium-

Platinum anti-tumour system influenced on the morphological indices of tumour tissue. The cluster rhenium compounds reduced the indices of pathological mitoses 3.0–3.6 times in comparison with a control group. The amount of PCNA-positive cells under the Rhenium-Platinum system treatment went down by 82.5–84.5 %. The anti-tumour system led to the predominance of apoptotic cell death over the necrotic one. The most effective agent was the compound with cis-adamantan organic ligand $cis-Re_2(C_{10}H_{15}COO)_2Cl_4 \cdot 2DMSO$ introduced on the 9th day.

Вступ

Із моменту відкриття цитотоксичної активності цисплатину $cis-[PtCl_2(NH_3)_2]$ (сРt) зусилля науковців спрямовані на з'ясування молекулярного механізму його дії та синтез нових сполук платини з поліпшеною протипухлинною активністю [2] і зниженими побічними ефектами. На сьогодні існує вже велика бібліотека металорганічних сполук [17], найперспективніші з яких – диядерні карбоксилати ренію [12]. Окреме їх використання як неплатинових протипухлинних агентів показало, що вони мають значно меншу токсичність, ніж платиніди, але їх антиканцерогенний ефект не перевищує такий цисплатину [12]. Вживання їх у комплексах із сРt на моделі карциноми Герена (Т8) зумовлює гальмування росту новоутворень і нормалізацію багатьох показників червоної крові [20; 21]. Тому створення різноманітних комплексів сполук металів – актуальне завдання, яке потребує глибшого їх вивчення.

На базі Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара у співпраці з кафедрою неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету проводяться досліди у вказаному напрямі, вивчаються комплексні сполуки ренію та платини на моделі карциноми Герена. Попередні дослідження реній-платинової системи показали її здатність пригнічувати ріст пухлини у 2–13 разів порівняно з групою щурів-пухлиноносців [18; 21]. Поряд з антиканцерогенним ефектом показано здатність ренієвих комплексів підвищувати дію платини та одночасно знижувати її токсичність. Карцинома Т8 – зручна модель для проведення таких досліджень [3; 18].

Отже, мета роботи – оцінити морфологічні показники пухлинної тканини за умов уведення ренієвих сполук і цисплатину, дослідити зміни індексів проліферації пухлинних клітин, визначити ступені постлікувального патоморфозу тканин.

Матеріал і методи досліджень

У ході експерименту вивчали кластерну сполуку ренію з адамантильним лігандом $cis-Re_2(C_{10}H_{15}COO)_2Cl_4 \cdot 2DMSO$ (Re2d), синтезовану на кафедрі неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного університету [19].

Експеримент проводили на білих щурах лінії Вістар віком 2–3 місяці, вагою 150–180 г, яким було трансплантовано карциному Герена, штам отриманий у НДІ онкології ім. Р. Е. Кавецького. Клітини карциноми Т8, суспендовані у стерильному фізіологічному розчині (20 % розчин суспензії), перещеплювали підшкірно у ліве стегно тварини.

Уведення комплексів ренію проводили внутрішньочеревинно за схемою антиоксидантної терапії десятиразово, починаючи з третьої доби після інокуляції пухлини, з інтервалом одну добу, у кількості 7 $\mu M/kg$ ваги щура кожне уведення. Тварин поділили на 7 груп, по 7 тварин у кожній: I група – контрольні тварини; тваринам II–VII груп перещепили карциному Герена; III групі тварин вводили сРt одноразово на дев'яту добу; IV групі вводили [Re2d] у вигляді наноліпосом та одноразово сРt; V групі щурів вводили [Re2d] у вигляді розчину та сРt на дев'яту добу. Тваринам VI та VII груп вводили адамантанову сполуку [Re2d] та сРt у вигляді наноліпосом, співвідношення компонентів системи реній-платина у яких було 4 : 1 та 4 : 2, відповідно. Протягом курсу лікування та в момент закінчення дослідження пухлини вимірювали за трьома показниками.

Використовуючи формулу Шрека ($V = \pi/6 \cdot (a \cdot b \cdot c)$, де a – довжина, b – ширина, c – висота), обчислювали середній об'єм пухлини [8]. При проведенні досліджень дотримувалися рекомендацій Європейської конвенції з питань етики по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей [13].

Тварин декапітували на 21-шу добу під легким ефірним наркозом. Після декапітації шурів пухлини видаляли за допомогою скальпеля та хірургічних ножиць, зважували. Далі з різних частин пухлини вирізались шматочки розміром 6×6 мм (2–3 шматочки – якщо вага пухлини понад 30 г, 1–2 – якщо вага пухлини 5–30 г; за умови ваги пухлини менше за 5 г її брали повністю). Після вилучення шматочки поміщали спочатку в 10 % розчин формаліну на одну добу у співвідношенні 1 (пухлина) : 10 (формалін), а потім проводили по спиртах: 10 % розчин ізопропілового спирту на 1 годину чотириразово. Шматочки заливали у парафін і робили гістологічні зрізи. Поряд із фарбуванням зрізів гематоксилін-еозином проводили імуногістохімічне вивчення зразків за допомогою антитіл до Anti-Proliferating Cell Nuclear Antigen (PCNA; Dako). Визначали морфологічні показники пухлинної тканини: кількість некрозів, апоптозів, патологічних мітозів, полів ослизнення, ступінь постлікувального патоморфозу пухлинної тканини [1; 4]. Статистичний аналіз отриманих даних проводили з використанням t -критерію Стьюдента, з оцінкою вірогідності отриманих результатів на рівні значимості не менше 95 % ($p < 0,05$). Дані виражали у вигляді $M \pm m$. Достовірно відмінними вважали результати при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Ефективність платинових похідних при ракових пухлинах пов'язана з пошкодженням ДНК пухлинної клітини [11], у результаті чого формуються цисплатин-ДНК-аддукти, які, у свою чергу, блокують реплікацію, транскрипцію і, як наслідок, клітинну проліферацію. Першочергово протягом експерименту вимірювали середні об'єми пухлини (рис. 1).

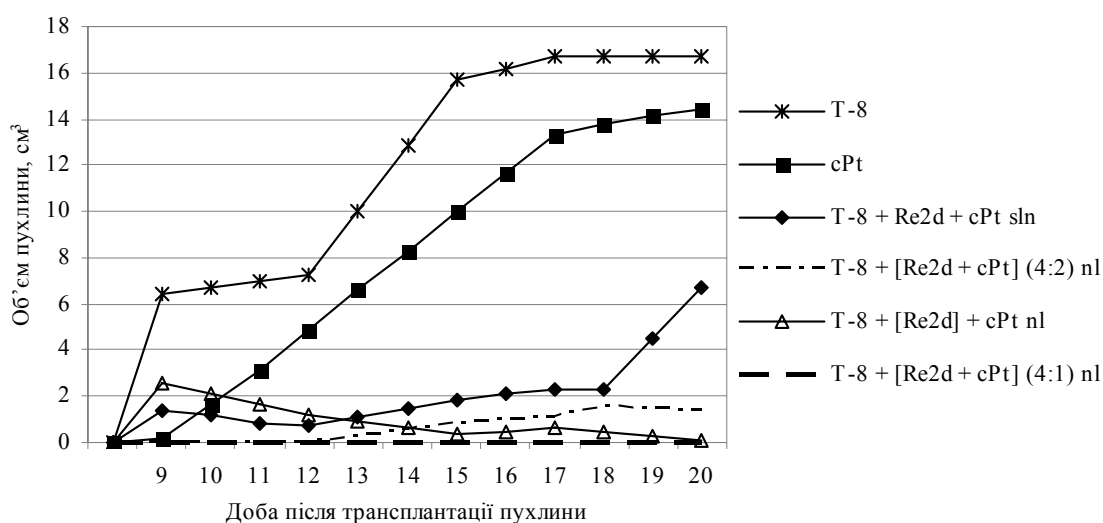


Рис. 1. Динаміка росту пухлин у піддослідних тварин

Розмір карциноми T8 на 20-ту добу досліді у 2,5 раза більший, ніж об'єм пухлини при введенні найменш ефективного комплексу Re2d + cPt sln. Введення лише cPt знижу-

вало темпи росту новоутворення, але збільшення об'ємів пухлини відбувалося прогресивно. Подібна ситуація спостерігалася у випадках T8 + Re2d + cPt sln та T8 + [Re2d + cPt] (4 : 2) nl. Уведення інших трьох комплексів ренію з органічними лігандами та цисплатином приводило до регресії пухлинного росту починаючи з 9-ї доби експерименту. Цікавий той факт, що окреме введення cPt пригнічувало ріст карциноми лише на 13,5 %.

Дані динаміки пухлинного росту підтверджують результати зважування пухлин після декапітації тварин (табл. 1). Вони вказують на високу гальмівну дію адамантанових комплексів ренію відносно проліферації в умовах внутрішньочеревинного введення.

Таблиця 1

Вага пухлин (г) підослідних тварин

№ групи	Назва групи	Вага пухлин
II	T-8	45,37 ± 2,27
III	T-8 + cPt	17,72 ± 0,87*
IV	T-8 + [Re2d] + cPt nl	0,11 ± 0,01*
V	T-8 + Re2d + cPt sln	2,43 ± 0,12*
VI	T-8 + [Re2d + cPt] (4:1) nl	0,14 ± 0,01*
VII	T-8 + [Re2d + cPt] (4:2) nl	0,54 ± 0,03*

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з групою T8, $p < 0,05$.

Згідно отриманих даних середня вага карциноми Герена на 21-шу добу становила 45,37 г. Введення cPt привело до зменшення ваги карциноми до 17,72 г (табл. 1).

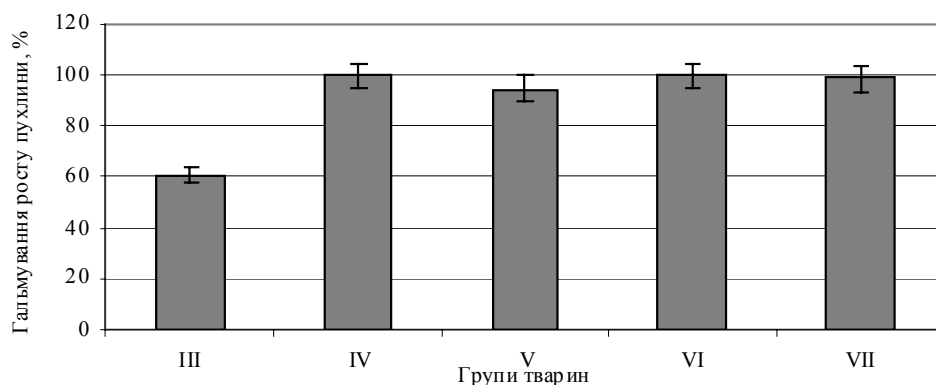


Рис. 2. Гальмування росту пухлини під дією препаратів ренію та цисплатину:

III – T8 + cPt, IV – T8 + [Re2d] + cPt nl, V – T8 + Re2d + cPt sln, VI – T8 + [Re2d + cPt] (4 : 1) nl, VII – T8 + [Re2d + cPt] (4 : 2) nl

Уведення адамантанових сполук разом із cPt викликало редукцію пухлини на 94–99 %. При цьому найефективнішими виявилися наноліпосомні форми кластерних сполук порівняно з дією розчину Re2d + cPt sln. Отже, можемо зробити висновок, що найвдаліші для доставки реній-платинових препаратів наноліпосомні форми, які і у попередніх дослідженнях виявили більшу пригнічувальну дію на проліферативну активність пухлинних клітин порівняно з розчинами [18; 19]. Висока ефективність ліпосомних форм препаратів, їх низька токсичність і подолання ними хіміорезистентності злоякісних новоутворень пояснюється їх будовою. Сполуки ренію та цисплатину, інкапсульовані у наноліпосоми, подібні своєю структурою до фосфоліпідів клітинної мембрани. Вони легко доставляються до цитоплазми пухлинних клітин шляхом ендозитозу, уникаючи безпосередньої взаємодії з P-глікопротеїновим транспортером, що міститься у плазматичній мембрані та є найчастішим чинником клітинної резистентності [3].

Вивчення гістологічних препаратів направлене на визначення темпів проліферації пухлинного росту. Відсоток проліферації вимірювали шляхом підрахунку у депарафінізованих зразках пухлин, пофарбованих гематоксилін-еозином, чотирьох індексів. Індекс патологічних мітозів (ПМ) виражали у відсотках патологічних мітотичних клітин до ста клітин у полі зору [6]. Кількісну оцінку апоптичних клітин проводили за показниками апоптичного індексу (ІА) у вигляді відсоткового відношення апоптичних клітин до ста досліджених клітин у полі зору (табл. 2). Подібним чином визначали індекс некротичних клітин (ІН) та індекс проліферації PCNA-позитивних клітин (ІП PCNA) [6].

Таблиця 2

Індекси проліферації (%) пухлинних тканин

№ групи	Назва групи	ПМ	ІА	ІН	ІП PCNA
II	T8	4,50 ± 0,23	0	59,80 ± 2,99	94,22 ± 4,71
III	T8 + cPt	3,35 ± 0,17	3,61 ± 0,18*	40,01 ± 2,00*	90,00 ± 4,50
IV	T8 + [Re2d] + cPt nl	1,25 ± 0,06*	1,14 ± 0,05*	0,80 ± 0,04*	82,53 ± 4,13*
VI	T8 + [Re2d + cPt] (4 : 1) nl	1,61 ± 0,08*	2,01 ± 0,10*	1,87 ± 0,09*	84,46 ± 4,22*

Примітки: ПМ – індекс патологічних мітозів, ІА – індекс апоптозу, ІН – індекс некрозу, ІП PCNA – індекс проліферації PCNA-позитивних клітин; * – достовірна різниця порівняно з групою T8, $p < 0,05$.

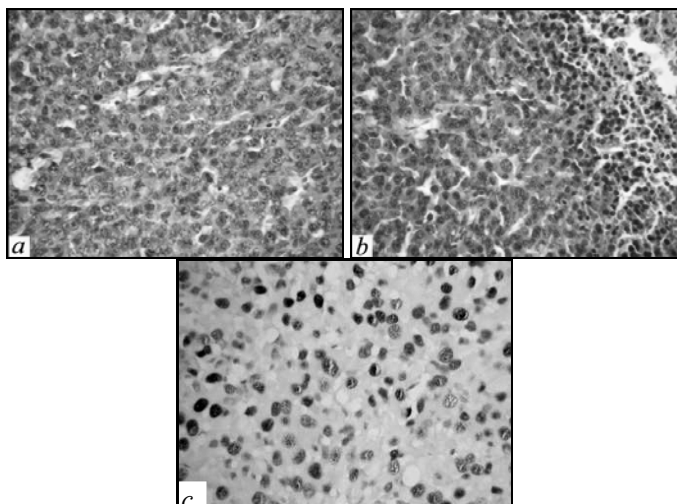


Рис. 3. Карцинома Герена:

фарбування гематоксиліном і еозином (a, b), × 200; фарбування антитілами до PCNA (c), × 400

При гістологічному дослідженні у препаратах пухлина Герена (рис. 3a, c) представлена поліморфними гіперхромними пухлинними клітинами зі зміщеними ядрами та базофільною цитоплазмою. Ядра світлі з грубодисперсним хроматином. У частині з них визначається ядерце. Спостерігаються широкі поля некрозів, які місцями досягають до 60 % пухлинної тканини, спостерігаються вогнища міксоматозу. ПМ становить $4,50 \pm 0,23$ %, апоптичні клітини не зустрічаються. При проведенні імуногістохімічних досліджень до 95 % пухлинних клітин експресують PCNA (рис. 3c). Проліферативна активність – один із ключових механізмів, які визначають як злоякісну трансформацію клітин, так і біологічну поведінку вже виниклих пухлин [7]. Використання сучасних імунологічних методів, зокрема застосування антитіл до нормальних ядерних білків-регуляторів життєвого циклу клітини, дозволяє визначити інтенсивність темпів клітинного зростання для оцінки перебігу та прогнозу захворювання. Серед маркерів про-

проліферації перспективне дослідження антигену ядер проліферувальних клітин PCNA, що експресується практично в усіх фазах мітотичного циклу та відображає величину проліферативного пулу [7; 9]. Індекс мічення PCNA використовується для прогнозування відповіді на терапію, що проводиться. Високий проліферативний індекс карциноми T8 характеризує її як активно проліферувальну, агресивну пухлину.

Уведення тваринам цисплатину викликає значні зміни пухлинної тканини, які вказують на виражений токсичний вплив сполуки (рис. 4a–c). Відмічається септальний фіброз із осередками пухлинних клітин посеред сполучної тканини, міксоматоз, осередки некрозу близько 40 %. ІА складає $3,61 \pm 0,18$ %, тобто цисплатин викликає загибель клітин двома шляхами: апоптичним і некротичним. Багаторазове перевищення загибелі клітин шляхом некрозу порівняно з апоптозом сигналізує про пошкодження ДНК та, як наслідок, про порушення механізмів запуску апоптозу, що є досить поширеним у трансформованих клітинах (клітини гинуть шляхом програмованого некрозу). Фізіологічне значення некрозу в такій ситуації має подвійний сенс. З одного боку, програмована загибель клітин шляхом некрозу за відсутності апоптозу все-таки знижує ризик передачі дочірнім клітинам мутацій. З іншого боку, розпад клітин при некрозі може сприяти активації імунної відповіді багатоклітинного організму [5]. Індекс PCNA-позитивних клітин незначно знижується, подібну картину спостерігаємо у тенденції ПМ. Пухлина зберігає активність проліферації, гальмування її розвитку порівняно з T8 незначне.

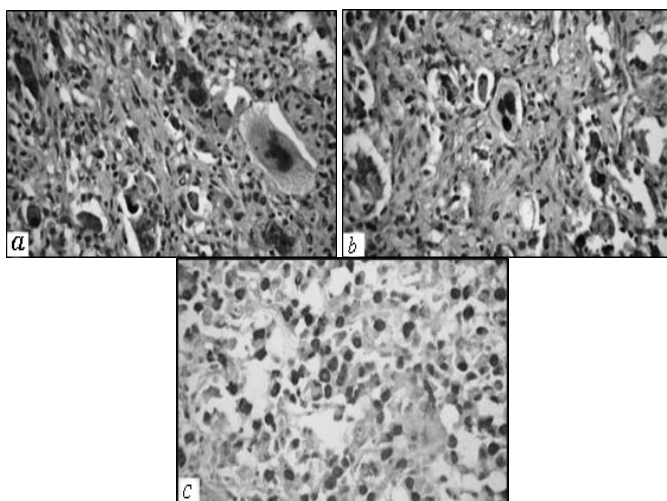


Рис. 4. Карцинома Герена під дією цисплатину:

фарбування гематоксиліном і еозином (a, b), $\times 400$; фарбування антитілами до PCNA (c), $\times 400$

При вивченні препаратів VI групи тварин, яким вводили адамантатний комплекс ренію та цисплатину (4 : 1) у вигляді наноліпосом, внутрішньочеревинно (рис. 5a–c), спостерігаються виражені ознаки лікувального патоморфозу пухлини: дифузний фіброз, осередкова лімфоїдно-клітинна інфільтрація. Одиначні пухлинні клітини, що знаходяться серед фіброзної тканини, мають потворну форму, гіперхромні, частина з них із дистрофічними змінами. Індеси апоптозу та некрозу клітин невеликі, близько 2 %, тобто їх загибель відбувається двома шляхами. Значно знизився порівняно з попередніми групами ПМ – $1,61 \pm 0,08$ % та ІП PCNA – $84,46 \pm 4,22$ %. Таким чином, пухлина не має активного прогресивного росту. Структура даних тканин відповідає третьому ступеню постлікувального патоморфозу [4].

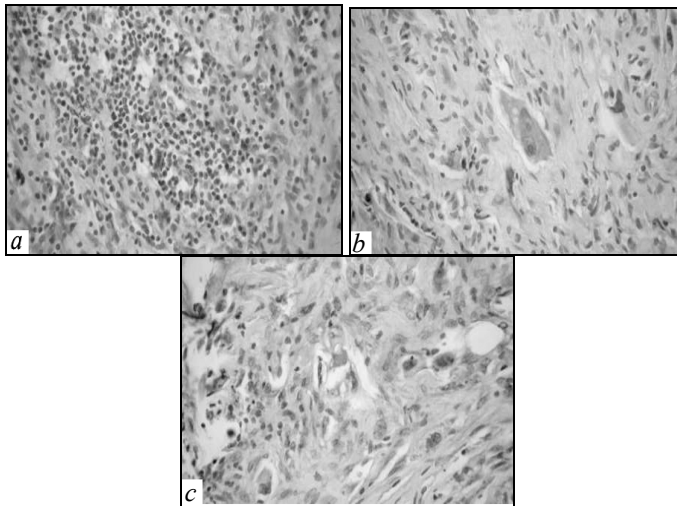


Рис. 5. Карцинома Герена під дією [Re2d + cPt] (4 : 1) nl:
фарбування гематоксилином і еозином, $\times 200$ (a), $\times 400$ (b, c)

У мікропрепаратах IV групи піддослідних тварин (рис. 6a–c), яким вводили адамантатний комплекс ренію у вигляді наноліпосом і цисплатину одноразово внутрішньочеревинно, спостерігаються морфологічні ознаки вираженого лікувального патоморфозу пухлини, що виявляються заміщенням фіброзною тканиною, серед якої зустрічаються одиничні поліморфні, переважно потворні пухлинні клітини. Виявлено осередкову лімфоїдно-клітинну інфільтрацію, поля світлих пінявих ксантомних клітин як результат лізису пухлинних клітин, що може бути наслідком їх некротичної загибелі. Індекс апоптозу становить $1,14 \pm 0,05$ %, що за умов ІН $0,80 \pm 0,04$ % говорить про майже рівноцінні шляхи клітинної загибелі. ІПМ найнижчий серед досліджуваних груп – $1,25 \pm 0,06$ %, майже повністю відсутнє запалення. Все це вказує на найефективнішу протипухлинну дію препарату [Re2d] + cPt nl. Структура даних тканин відповідає четвертому, найвищому ступеню постлікувального патоморфозу [4].

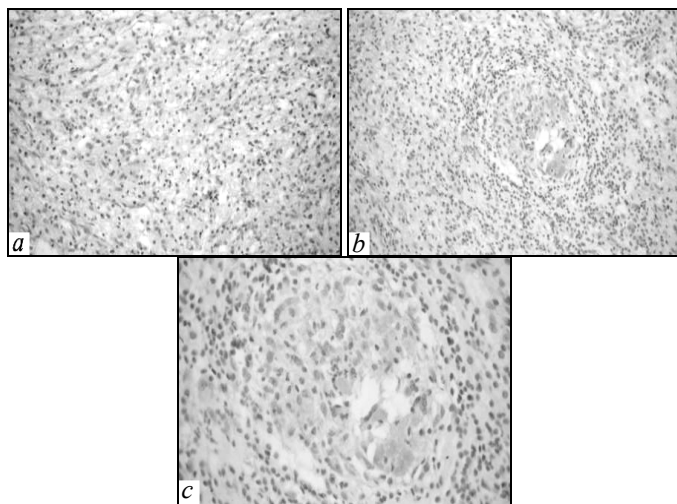


Рис. 6. Карцинома Герена під дією [Re2d] + cPt nl:
фарбування гематоксилином і еозином, $\times 200$ (a, b), $\times 400$ (c)

Терапія цисплатином викликала утворення у пухлинній тканині гігантських клітин (4–6 у кожному полі зору). Їх кількість у випадках уведення системи реній–платина знижувалася (до 1–3 у полі зору). Цікавим є той факт, що більшість із них PCNA-позитивні, тобто готові чи готуються до поділу. Ще донедавна вважалося, що гігантські клітини не мають можливості поділу, тобто вони не мають майбутнього, тому їх уважали «кінцевими». Показано, що окремі гігантські клітини можуть перебувати у такому стані тижні, місяці та роки. Справді, більшість із них рано чи пізно руйнуються, але іноді вони піддаються мейотичноподібному поділу. Такий поділ здобув назву «неозис», у результаті нього час від часу утворюються невеликі пухлинні клітини, здатні до нормальної проліферації [16]. Таким чином, якщо в результаті лікування у пухлинних тканинах виявлено гігантські поліплоїдні клітини, навіть за умов відсутності факторів, що вказують на можливість поновлення проліферативної активності, не виключається таке відновлення, що може бути спричинене поділом гігантських клітин.

Висновки

На моделі карциноми Герена Т8 у щурів встановлено, що використання системи Re–Pt викликає регресію росту, призводить до деструкції пухлинної тканини, змінює її морфологічні показники, знижує проліферувальний пул клітин, спричинює переважання індексу апоптозу над індексом некрозу, знижує показник патологічних мітозів і кількість PCNA позитивних клітин. У сукупності ці показники вказують на виражені ознаки лікувального патоморфозу карциноми, що підтверджується гістологічними дослідженнями Т8 в умовах дії ренію та цисплатину. Виявлено проліферувальну фракцію гігантських пухлинних клітин. Аналізуючи групи за морфологічними характеристиками, з'ясували, що найбільшу антипроліферативну активність виявив комплекс *cis-Re₂(C₁₀H₁₅COO)₂Cl₄·2DMSO* з одноразовим уведенням *cis-[PtCl₂(NH₃)₂]* на 9-ту добу у вигляді наноліпосом.

Бібліографічні посилання

1. Аруин Л. И. Морфологическая диагностика болезней желудка и кишечника / Л. И. Аруин, Л. Л. Капуллер, В. А. Исаков. – М. : Трианда-Х, 1998. – С. 13–26.
2. Жаврид Э. А. Гипертермия и гипергликемия в онкологии / Э. А. Жаврид, С. П. Осинский, С. З. Фрадкин. – К. : Наук. думка, 1987. – С. 45–58.
3. Липосомальные препараты: путь к преодолению лекарственной устойчивости к цисплатину / Г. И. Кулик, В. М. Пивнюк, М. М. Носко и др. // Онкология. – 2009. – Т. 11, № 1. – С. 76–80.
4. Лушников Е. Гибель клетки (апоптоз) / Е. Лушников, А. Ю. Абросимов. – М. : Медицина, 2001. – 192 с.
5. Онищенко Г. Е. Варианты программированной гибели клеток. – М. : МГУ им. М. В. Ломоносова, 2004. – 15 с.
6. Пушкарь С. Н. Возможность использования толерантных доз химиопрепаратов как радиомодификаторов, которые активируют церамидный путь апоптоза / С. Н. Пушкарь, Н. В. Белозор // Проблемы сучасної медичної науки та освіти. – 2009. – С. 54–57.
7. Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / Под ред. С. В. Петрова, Н. Т. Райхлина. – Казань : Титул, 2004. – 456 с.
8. Тимофеевский А. Д. Модели и методы экспериментальной онкологии. – М. : Медгиз, 1960. – 268 с.
9. Хариет Э. Р. Иммуноцитохимия: электронная микроскопия / Э. Р. Хариет, К. С. Гаттер // Молекулярная клиническая диагностика. Методы / Под ред. С. Херрингтона, Д. Макги. – М. : Мир, 1999. – 558 с.

10. **Beresford M. J.** Measuring proliferation in breast cancer: practicalities and applications / M. J. Beresford, G. D. Wilson, A. Makris // *Breast Cancer Research*. – 2006. – Vol. 34. – P. 14–18.
11. **Electron** microscopy analysis of early localization of cisplatin in ovarian carcinoma cells / G. L. Beretta, S. C. Righetti, L. Lombardi et al. // *Ultrastruct Pathol*. – 2002. – Vol. 26. – P. 331–334.
12. **Chifotides H. T.** Interactions of metal-metal-bonded antitumor active complexes with DNA fragments and DNA / H. T. Chifotides, K. R. Dunbar // *Acc. Chem. Res*. – 2005. – Vol. 38. – P. 146–156.
13. **European** convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes (ETS N 123). – Strasbourg. – 18.03.1986.
14. **Platinum** complexes with imino ethers or cyclic ligands mimicking imino ethers: Synthesis, *in vitro* antitumor activity, and DNA interaction properties / F. P. Intini, A. Boccarelli, V. C. Francia et al. // *J. Biol. Inorg. Chem*. – 2004. – Vol. 9. – P. 768–780.
15. **Activation** of trans geometry in bifunctional mononuclear platinum complexes by a piperidine ligand – Mechanistic studies on antitumor action / J. Kasparkova, O. Novakova, V. Marini et al. // *J. Biol. Chem*. – 2003. – Vol. 278. – P. 47516–47525.
16. **Stem** cells, senescence, neosis and self-renewal in cancer / R. Rajaraman, D. L. Guernsey, M. Rajaraman, S. R. Rajaraman // *Cancer Cell International*. – 2006. – Vol. 4. – P. 67–72.
17. **Rosenberg B.** Platinum complexes for the treatment of cancer: Why the search goes on in cisplatin. Chemistry and biochemistry of a leading anticancer drug / B. Rosenberg, B. Lippert // *Wiley-VCH*. – 1999. – Vol. 8. – P. 3–27.
18. **Synthesis**, characterization, *in vivo* antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin / A. Shtemenko, P. Collery, N. Shtemenko et al. // *Dalton Trans*. – 2009. – P. 5132–5136.
19. **Shtemenko A. V.** Chemistry of binuclear rhenium clusters in rhenium and rhenium alloys / A. V. Shtemenko, B. A. Bovykin // *TMS Publication, Pensilvania*. – 1997. – P. 189–197.
20. **Shtemenko N. I.** Dichlorotetra-*m*-isobutiratodirhenium (*III*): Enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties / N. I. Shtemenko, P. Collery, A. V. Shtemenko // *Anticancer Research*. – 2007. – Vol. 27, N 4. – P. 2487–2492.
21. **Shtemenko N.** The novel rhenium and platinum antitumor system / N. Shtemenko, P. Collery, A. Shtemenko // *Journal of Biological Inorganic Chemistry. 13th International Conference on Biological Inorganic Chemistry*. – Vienna, Austria, 2007. – Vol. 12. – P. 22.
22. **Wong E.** Current status of platinum-based antitumor drugs / E. Wong, C. M. Giandomenico // *Chem. Rev*. – 1999. – Vol. 99. – P. 2451–2466.

Надійшла до редакції 30.03.2011