

УДК 577.12+612.111

Ю. С. Воронкова, І. В. Леус, А. О. Кулініч, О. Д. Жабицька, Н. І. Штеменко

Дніпропетровський національний університет

ВИКОРИСТАННЯ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ З АЛКІЛЬНИМИ ЛІГАНДАМИ У ПРОЦЕСІ ПРИГНІЧЕННЯ РОСТУ КАРЦИНОМИ ГЕРЕНА

Досліджено кількість еритроцитів, їх якісний склад, концентрацію гемоглобіну в крові, концентрацію глюкози в еритроцитах та у плазмі крові, вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів при розвитку карциноми Герена Т8, введенні цис-платину і кластерних сполук ренію з органічними лігандами. Показано, що сполуки ренію мають значний антиоксидантний ефект та змінюють динаміку розвитку пухлини. Зроблено висновок про перспективність використання сполук ренію, які містять кластерний фрагмент і органічні ліганди, для подальших досліджень *in vivo* при зміненому редокс-статусі організму.

Y. S. Voronkova, I. V. Leus, A. O. Kulinich, O. D. Zhabits'ka, N. I. Shtemenko

Dnipropetrovsk National University

USE OF CLUSTER RHENIUM SUBSTANCES WITH ALKYL LIGANDS FOR INHIBITION OF THE GUERIN CARCINOMA GROWTH

Quantity and quality of erythrocytes, blood haemoglobin concentration, glucose levels in the erythrocytes and plasma, content of TBA-active products in blood plasma of rats were studied during development of the Guerin carcinoma, introduction of cis-platinum and cluster rhenium substances with organic ligands. It was shown that rhenium substances had essential antioxidant effects and changed the dynamic of tumour growth. The conclusion on perspectiveness of further investigations of rhenium substances with cluster fragment and organic ligands in experiments *in vivo* with changed redox-status of an organism was drawn.

Вступ

У наших попередніх роботах [1; 5; 10] показано, що кластерні сполуки ренію з тетраізобутиратними, амінокислотними та адамантанкарбоксилатними лігандами проявляли антигемолітичну активність у експериментах *in vivo* та *in vitro*. При цьому активність сполук ренію була позитивною в моделях при низьких концентраціях. Це позитивно впливало на еритроцитарну стійкість при фізіологічних концентраціях. Відповідний вплив на гематологічні показники та загальний стан організму пояснюється наявністю почверного зв'язку в молекулах кластерних сполук і здатністю цього зв'язку виявляти функцію пастки для радикалів. Проте кількісні коригуючі показники сполук відрізнялися, що свідчить про певний внесок ліганду в антигемолітичну активність. До того ж, експерименти *in vitro* з еритроцитами [7] та з раковими клітинами [4] показали повну відсутність активності у кластерних сполук ренію з бромідним замісником і алкільними лігандами у дикарбоксилатів із транс-розташуванням ліганду. Отже, електронегативність, гідрофобність лігандів та їх розміщення навколо почверного зв'язку можуть бути вирішальними у біологічній активності сполуки поряд із наявністю почверного зв'язку, що ро-

бить актуальним подальший пошук біологічно активних сполук ренію. Нашу увагу привернули такі нові сполуки: Re 1 – цис-діакватетра- μ -хлородипропіонатодиреній (III) дихлорид, Re 2 – цис-діакватетра- μ -хлородипівалатодиреній (III) дихлорид. Метою роботи було визначення протипухлинної та антигемолітичної активності Re 1 та Re 2 у моделі карциноми Герена.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження проводили на щурах лінії Вістар масою 100–150 г, віком два місяці. Суспензія клітин карциноми Герена Т8 (30 % у фізіологічному розчині) перевивалася здоровим щурам від пухлиноносіїв, отриманих в Інституті онкології та радіології ім. Р. О. Кавецького МОЗ України. Цис-платин і ліпосомні форми кластерних сполук ренію готували в Українському державному хіміко-технологічному університеті на кафедрі неорганічної хімії [9; 11; 13]. Досліджували кластерні сполуки ренію з органічними лігандами (КРОЛ) Re 1 та Re 2 (рис. 1).

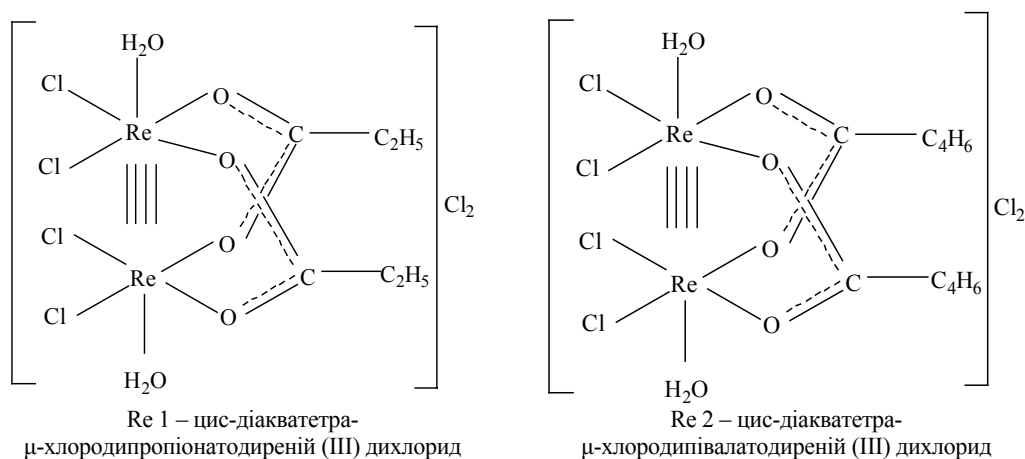


Рис. 1. Структурні формули кластерних сполук ренію з органічними лігандами.

Цис-платин вводили одноразово у дозі 8 мг/кг на дев'яту добу після перевивання пухлини [14]. Сполуки ренію вводили за схемою антиоксидантної терапії [8], починаючи з третьої доби після перевивання пухлини з інтервалом в одну добу у кількості 3,4 ммоль/кг. На 21-у добу тварин декапітували з використанням анестезії хлороформом, видаляли та зважували пухлину та досліджували вміст ТБК-активних продуктів у плазмі крові [12], кількість еритроцитів [6], виготовляли мазки крові [2], визначення гемоглобіну проводили гемоглобінціанідним методом з ацетонціангідрином [3], глюкозу визначали глюкозооксидазним методом [3]. Дослідні тварини були поділені на групи по 7 щурів у кожній: № 1 – здорові інтактні щури; № 2 – щури з карциною Герена Т8; № 3 – щури з карциною Герена Т8, яким вводили цис-платин; № 4 – щури з карциною Герена Т8, яким вводили Re 1; № 5 – щури з карциною Герена Т8, яким вводили Re 2. Результати обробляли статистично з використанням *t*-критерію Стьюдента. Зміни показників вважалися достовірними при $p < 0,05$.

Результати та їх обговорення

У наведених структурах (див. рис. 1) потрібно підкреслити наявність почверного зв'язку, що є основним структурним елементом кластерного ряду; по-друге, слід звернути увагу на хлоридні замісники, які є найкращими для стабілізаційних можливостей сполук щодо взаємодії з еритроцитами; по-третє, наведені сполуки відносять-

ся до дикарбоксилатів цис-ряду, тобто обидва замісники розташовані по один бік від почверного зв'язку. Обидві сполуки, таким чином, відрізняються тільки алкільним радикалом нерозгалуженого типу, тобто є гомологами. У контрольній групі об'єм пухлини на 21-у добу досягав 120000 мм³ (рис. 2) та спостерігалася смертність. У групах із застосуванням антиракових препаратів смертність у середньому була 20 %.

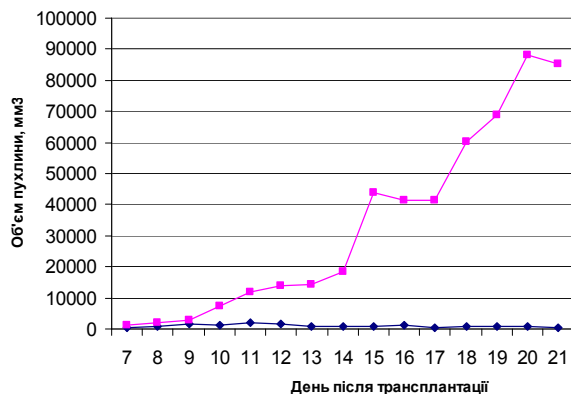


Рис. 2. Середній розмір пухлини в контрольній (1) та експериментальних групах (2).

На 21-у добу після імплантації пухлини у цих групах у більшості не пальпувалися або мали дуже невеликий розмір. На рисунках 3, 4 у більшому масштабі, ніж на рисунку 2, показано динаміку росту пухлин у окремих щурів. Динаміка розвитку та пригнічення пухлини антиканцерогенними препаратами має індивідуальний характер. Максимум розміру пухлини (до 7000 мм³) досягається на 10–13-у добу після імплантації тільки у деяких тварин. У більшості тварин пригнічення росту відбувається до 2000 мм³ і не більше з 9-ї доби після початку експерименту. Оскільки в експериментах була задіяна різна кількість щурів, то зробити висновок про порівняльну активність Re 1 та Re 2 на основі даних про динаміку розвитку пухлини неможливо. Проте кількість морфологічних форм еритроцитів та зміна морфологічних форм цих клітин (табл. 1) дає підставу говорити про ефективність тієї чи іншої сполуки у порівняльному плані.

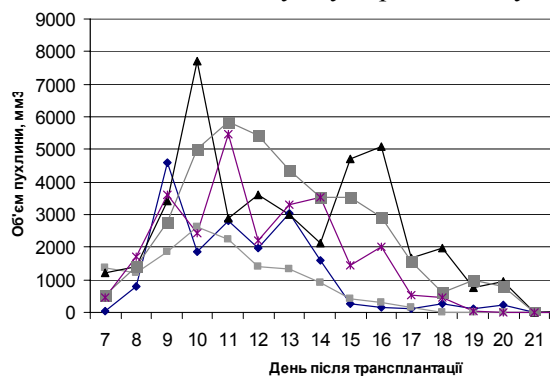


Рис. 3. Динаміка росту пухлини в окремих щурів при застосуванні Re 1 (група 4).

При розвитку пухлини та при антиканцерогенній терапії зміни спостерігалися лише при введенні цис-платину, а саме спостерігалася зниження кількості еритроцитів порівняно з нормою. Кількість дискоцитів при розвитку пухлини знижувалася порівняно з нормою приблизно удвічі, кількість ехіноцитів залишалася незмінною. Незначне збільшення кількості дискоцитів та зниження кількості ехіноцитів порівняно з контрольною

групою спостерігали при терапії цис-платином. При комплексній терапії цис-платином, Re 1 та Re 2 у щурів відбувалося значне підвищення кількості дискоцитів. При використанні Re 1 та цис-платину кількість ехіноцитів наближалася до норми, а у випадку використання терапії цис-платином і Re 2 рівень ехіноцитів був нижчий за норму приблизно у 4 рази. Отже, використання Re 1 як модулятора дії цис-платину найдоцільніше. Зміну гематологічних показників, що ми спостерігали, можна пояснити та підтвердити деякими біохімічними показниками (табл. 2).

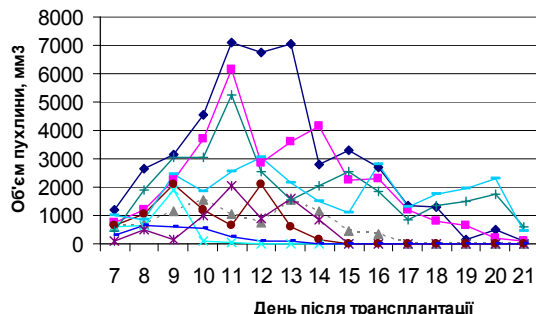


Рис. 4. Динаміка росту пухлини в окремих щурів при застосуванні Re 2 (група 5).

Таблиця 1

Кількість і морфологічні форми еритроцитів різних груп тварин

Групи тварин	Кількість еритроцитів, $\cdot 10^{12}/л$	Морфологічні форми еритроцитів у крові щурів		
		дискоцити, %	ехіноцити, %	інші форми, %
1	6,71±1,60	67,29±3,36	19,38±0,97	14,47±0,74
2	4,51±1,93	34,25±1,71	51,14±2,56	21,00±1,05
3	4,03±0,55	39,00±1,95	46,40±2,38	14,61±0,83
4	6,15±1,12	64,70±3,27	21,60±1,08	12,73±0,64
5	6,64±1,04	52,20±2,61	5,61±0,36	40,20±2,01

Таблиця 2

Біохімічні показники крові у різних груп тварин

Групи тварин	Концентрація гемоглобіну в крові, г/л	Концентрація глюкози		Концентрація ТБК-активних сполук, мкмоль/л
		еритроцити, ммоль/л	плазма крові, ммоль/л	
1	145,53±7,28	32,55±1,63	5,93±0,30	0,42±0,09
2	97,60±4,88	23,80±1,19	3,46±0,17	2,22±0,20
3	129,49±12,43	50,99±2,55	6,22±0,31	1,16±0,10
4	119,67±5,98	14,72±0,74	9,44±0,47	0,59±0,03
5	100,64±5,03	16,69±0,83	10,43±0,52	0,68±0,02

Розвиток пухлини спричиняв зниження рівня гемоглобіну крові. Використання цис-платину викликало підвищення вмісту гемоглобіну, причому рівень не відрізнявся від такого у здорових щурів. У групі з комплексною терапією цис-платином і Re 1 рівень гемоглобіну вищий за контроль і нижчий за норму. При використанні цис-платину та Re 2 концентрація рівня гемоглобіну не відрізнялася від такого у контрольній групі. Розвиток карциноми Герена призводив до зниження рівня глюкози в еритроцитах крові, що спостерігалось також і у плазмі крові. Терапія цис-платином викликала значне підвищення рівня глюкози в еритроцитах, у плазмі крові цей показник сягав норми. При комплексній терапії цис-платином, Re 1 та Re 2 у щурів відбувалося зниження рівня глюкози в еритроцитах приблизно вдвічі порівняно з нормальним рівнем. Цей показник у плазмі крові, навпаки, підвищувався порівняно з нормою та контролем. Розвиток злоякісних ново-

утворень спричиняє оксидативний стрес, що підтверджують наші дані щодо рівня ТБК-активних сполук у плазмі крові щурів. При розвитку карциноми Герена рівень ТБК-активних сполук збільшувався у декілька разів, що свідчить про значне підвищення окисних процесів. При введенні тваринам із карциномою Герена цис-платину даний показник знижувався приблизно на 50 % порівняно з контрольною групою, що можна пояснити гальмуванням розвитку пухлини. При комплексній терапії Re 1 та цис-платином спостерігалось зниження ТБК-активних сполук у плазмі крові щурів приблизно у 3,5 раза порівняно з контрольною групою. Схожа ситуація спостерігалась і при терапії Re 2 та цис-платином, хоча цей ефект був менш значним, ніж для Re 2.

Висновок

Комплексні сполуки ренію перспективні для використання як модулятори дії цис-платину, причому використання Re 1 призводить до інтенсивнішого зниження оксидативного стресу у тварин, ніж використання Re 2. Це свідчить про недоцільність подальшого збільшення ліганду у складі досліджених сполук при спрямованому синтезі кластерних комплексів ренію як протипухлинних препаратів.

Бібліографічні посилання

1. **Антигемолітична** активність кластерних комплексів ренію з органічними лігандами / Н. І. Штеменко, С. А. Олійник, О. В. Штеменко та ін. // Доповіді НАНУ. – 2001. – № 6. – С. 194–197.
2. **Бычков И. А.** Морфологические особенности эритроцитов периферической крови в норме и патологии (световая микроскопия) // Гематология и трансфузиология. – 1991. – № 6. – С. 45–48.
3. **Горячковский А. М.** Пособие по клинической биохимии. – Одесса: ОКФА, 1994. – С. 302–304.
4. **Зеленюк М. А.** Біологічна активність ліпосомних форм комплексних сполук ренію (III) з органічними лігандами. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків: ХНУ ім. В. Н. Каразіна, 2005. – 18 с.
5. **Изучение** состава свободных аминокислот крови здоровых и больных анемией людей / Е. Д. Жабицкая, Н. И. Штеменко, А. А. Пупченко, О. А. Сорочан // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – Д.: ДНУ, 2002. – Вип. 10, т. 2. – С. 146–150.
6. **Методические** указания и инструкции к выполнению лабораторных работ по курсу “Физиология человека и животных”. – Д.: ДГУ, 1988. – Ч. 2. – С. 19–23.
7. **Пирожкова-Пагалах І. В.** Антиоксидантна та антиканцерогенна активність кластерних сполук ренію. Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Харків: Харківський нац. ун-т ім. В. Н. Каразіна, 2001. – 20 с.
8. **Предупреждение** повреждения миокарда при гемолитической анемии с помощью антиоксидантов / Ф. З. Меерсон, А. Б. Сухомлинов, М. Е. Евсеева и др. // Кардиология. – 1983. – Т. 23, № 6. – С. 94–99.
9. **Синтез** и свойства цис-тетрагалогено-ди- μ -карбоксилатных производных дирения (III) с адмантанкарбоновыми кислотами / А. В. Штеменко, А. А. Голиченко, И. Семенова, Я. С. Вербицкая // Вопр. химии и хим. техн. – 2001. – № 4. – С. 31–34.
10. **Сорочан О. О.** Вміст вільного гістидину в еритроцитах і плазмі крові при розвитку та гальмуванні карциноми Герена T₈ / О. О. Сорочан, О. Д. Жабицька, Н. І. Штеменко // Вісник Дніпропетр. ун-ту. Біологія. Екологія. – 2005. – Вип. 13, т. 2. – С. 179–183.
11. **Спектрофотометричне** дослідження взаємодії комплексних сполук ренію з фосфатидилхоліном за формування ліпосом / О. В. Штеменко, М. А. Зеленюк, Н. І. Штеменко та ін. // Укр. біохім. журн. – 2002. – Т. 74, № 6. – С. 38–43.
12. **Чевари С.** Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте / С. Чевари, Т. Андял, Я. Штрэнгер // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 9–13.
13. **Штеменко О. В.** Синтез биядерных кластеров рения (III) с аминокислотами / О. В. Штеменко, Б. О. Бовикин, О. В. Кожура // Укр. хім. журн. – 1997. – Т. 63, № 11. – С. 35–38.
14. **Taylor S. K.** Is recombinant human erythropoietin (rh-epo) more than just a treatment of anemia in cancer and chemotherapy? // Medical Hypothesis. – 2003. – Vol. 60, N 1. – P. 89–93.

Надійшла до редколегії 11.04.2007