

Дніпропетровська медична академія  
Міністерство охорони здоров'я України  
Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара  
Міністерство освіти і науки України  
Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна  
Міністерство освіти і науки України

Кваліфікаційна наукова  
праця на правах рукопису

**Шамелашвілі Карина Леонідівна**

УДК46.719:54.024:577.151:616-006.69

**ДИСЕРТАЦІЯ**  
**«РЕГУЛЯЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ КРОВІ ЩУРІВ-  
ПУХЛИНОНОСІЇВ ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ  
РЕНІЙ-ПЛАТИНА»**

Спеціальність 03.00.04 – «Біохімія»  
(Біологічні науки)

Подається на здобуття наукового ступеня кандтдата біологічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело  
\_\_\_\_\_К. Л. Шамелашвілі

Науковий керівник Штеменко Наталія Іванівна, доктор біологічних наук,  
професор

Харків - 2019

## АНОТАЦІЯ.

**Шамелашвілі К. Л. Регуляція оксидативного стресу крові щурів-пухлиноносіїв за введення протипухлинної системи Реній-Платина. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.04 – біохімія (Біологічні науки). - Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України; Дніпровський національний університет імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України; Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна Міністерства освіти і науки України, Харків, 2019.

Дисертацію присвячено дослідженню впливу сполук Ренію(III) з органічними лігандами за різних форм введення на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за розвитку звичайної та резистентної до цисплатину карциноми Герена та їхню каталазну активність і взаємодію з нативною каталазою.

Роботу виконано на щурах лінії Wistar у стандартних умовах віварію. Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації щурам клітин карциноми Герена (T8) та резистентної до цисплатину карциноми Герена (T8p) у фізіологічному розчині. Кластерні сполуки Ренію і цисплатин вводили трьома способами. : 1 спосіб – введення окремо сполуки Ренію у ліпосомах; 2 спосіб – введення компонентів системи Re-Pt, де цисплатин вводили одноразово у водному розчині а сполука Ренію у ліпосомах вводилася десятикратно. 3 спосіб – введення системи Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом та наночасток, де обидва цитостатики знаходилися всередині ліпідної нанокапсули. Біохімічні виміри проводили за стандартними методами.

Встановлено, що введення окремо сполуки Ренію тетракарбоксилатного типу у формах звичайних ліпосом наноліпосом і твердих наночасток пригнічувало ріст карциноми Герена на 30-40 %, проте, призводило до 2 - 5 кратного зниження інтенсивності перекисного

окиснення ліпідів у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв. Введення компонентів системи Re-Pt способом 2 призводило не тільки до значного гальмування росту пухлини, але й до значного зниження (нормалізації) концентрації продуктів перекисного окиснення ліпідів. Ефективність кластерних сполук Ренію(III) як антиоксидантів ми пояснюємо унікальними антирадикальними властивостями почверного зв'язку у їхньому складі. Інкапсулювання системи Re-Pt в одну ліпосому, або в тверду нанокapsулу (нанобіни) не призводило до втрати антиканцерогенних та антиоксидантних властивостей її компонентів, за виключенням експериментів, де було збільшено кількість цисплатину всередині нанокapsули і де вводилися змішані наночастки *per os*.

Введення системи Реній-Платина і її компонентів призводило до підвищення активності супероксиддисмутази еритроцитів (до 3-х кратної величини) і до зниження активності каталази (у 1,5 рази) у порівнянні з контролем і підвищення активності супероксиддисмутази (у 3,5 рази) у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв.

За введення кластерних сполук Ренію з адамантильними, індольними і ферулатними лігандами відбувається пригнічення росту пухлини, зниження інтенсивності перекисного окиснення ліпідів і підвищення активності супероксиддисмутази, що практично не відрізняється від впливу кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами

Відмінністю регуляції оксидативного стресу сполуками Ренію з біологічно активними лігандами є суттєве підвищення активності каталази (до 3,5 рази) у порівнянні з групою Т8. Таке підвищення активності антиоксидантного ферменту характерне для усіх способів введення кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами, проте найсуттєвіше підвищення спостерігається за введення способом 2. Іншою відмінністю від впливу кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами є значне підвищення активності глутатіонпероксидази, особливо характерне

для введень сполуки з ферулатними лігандами – в 2-24 рази у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв.

Активність супероксиддисмутази і каталази в еритроцитах щурів за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена була вище у 5 разів і на 40 % відповідно порівняно з контрольною групою. Слід підкреслити, що розвиток звичайної та резистентної карциноми Герена по-різному впливає на активність каталази. Для звичайної карциноми характерне пригнічення активності ензиму, а для резистентної, навпаки, активація порівняно з контрольною групою. Також, показано різний відгук ферментативної системи еритроцитів щурів-пухлиноносіїв з резистентною карциномою на введення цитостатиків. Наприклад, за введення системи Реній - Платина в формі наноліпосом та наночасток активність каталази підвищується в середньому в 4,3 рази порівняно контролем та в 3 рази порівняно з групою T8p, що не спостерігалось за розвитку звичайної карциноми Герена. Активність глутатіонпероксидази, навпаки, знижується за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена як порівняно з контролем, так і з групою щурів-пухлиноносіїв.

Дослідження реакції розкладу пероксиду водню показало, що кластерні сполуки Ренію мають власну каталазну активність, яка досягає 40 % у порівнянні з нативною каталазою і перевищує відомі біоміметики на основі сполук Церію. Кластерні сполуки Ренію взаємодіють з нативною каталазою, утворюючи комплекси, які перевищують активність каталази у 2-4 рази.

Були досліджені спектри нативної каталази в області поглинання білкових ароматичних кислот та в області поглинання гемінових груп. Спостерігали збільшення інтенсивності поглинання і невеликий зсув максимуму з 275 нм до 278 нм, у довгохвильову область поглинання. Це свідчить про утворення нового комплексу каталаза –  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  із більш впорядкованою конформацією. Тобто, приєднання  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  до гістидинових залишків не тільки не порушує впорядкованості білкової глобули, але сприяє її зміцненню, тобто впорядкованості. Така зміна конформації білкових

глобул тетрамерної каталази відбивається на підвищення її каталітичної активності.

Приєднання сполуки Ренію здійснює підвищення інтенсивності поглинання у області гемінових груп (340-420 нм) і утворення нових максимумів поглинання при 340, 362, 390, 408 нм, що підтверджує раніше зроблений висновок про утворення комплексу каталази з  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ . Якщо при порушенні активного гемо-вмісного комплексу спостерігали зниження інтенсивності поглинання у полосі Core, то підвищення інтенсивності поглинання у цій полосі в наших експериментах свідчить про збільшення  $\pi$ -кон'югації порфіринових кілець у активному центрі ферменту і про формування активного центру з більшою електронною густиною  $\pi$ -кон'югованого гему.

Отримані нами дані вказують на перспективність подальших досліджень каталазної активності інших представників структурних типів кластерних сполук Ренію(III), оскільки, як показано у наших роботах, дикарбоксилати володіють антиоксидантними властивостями менш вираженими, ніж тетракарбоксилати, трикарбоксилати і т.і. Також актуальним напрямком подальших досліджень є з'ясування механізму активації каталази, оскільки з точки зору медичної практики явище активації нативних ферментів організму може бути важливішим, ніж величина власної каталазної активності біоміметика.

Вперше досліджено антиоксидантні властивості сполук Ренію з адамантильними, індольними та ферулатними лігандами, та встановлено можливість активації ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за їхнього введення щурам-пухлиноносіям. Вперше показано, що незалежно від форми введення, зокрема у вигляді ліпосом і твердих наночасток, що містять декілька цитостатиків, кластерні сполуки Ренію зберігають потужні антиоксидантні властивості. Вперше показано вплив природи органічних лігандів, розташованих в цис-положенні навколо кластерного фрагмента диренію(III), на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів.

Також вперше показано різний відгук антиоксидантної системи захисту еритроцитів щурів-пухлиноносіїв від супероксид-аніону і пероксиду водню на введення цитостатиків за розвитку звичайної і резистентної карциноми. Введення кластерної сполуки Ренію з ферулатним лігандом активувало систему глутатіонового захисту еритроцитів, що раніше не спостерігалось для щурів-пухлиноносіїв. Вперше показано каталазну активність кластерної сполуки Ренію(III) дикарбоксилатного структурного типу, яка перевищує таку для відомих біоміметиків на основі Церію. Вперше для металоорганічних сполук на прикладі кластерних сполук Ренію(III) показано, що вони можуть взаємодіяти з нативним білком каталазою із значним підвищенням (до 2,5 разів) каталазної активності утвореного комплексу.

Виконана робота вносить певний вклад у розвиток біохімії, зокрема біонеорганічної хімії і має практичне значення. Отримані результати становлять теоретичну основу спрямованого синтезу протипухлинних препаратів на основі кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами, які одночасно володіють протипухлинними, антиоксидантними властивостями та регулюють редокс-стан еритроцитів за розвитку новоутворень, зокрема, резистентних до цисплатину. Показана перспективність створення синтетичних низькомолекулярних біоміметиків на основі кластерних сполук Ренію, які мають одночасно каталазну, супероксиддисмутазну активність та активують антиоксидантну ферментативну систему еритроцитів пухлиноносіїв. Показані відмінності у функціонуванні ферментативної системи еритроцитів пухлиноносіїв із звичайною та резистентною системою еритроцитів може зробити певний внесок у розуміння біохімічних особливостей розвитку резистентних новоутворень. Зроблено певний внесок в методологію дослідження протипухлинних засобів, яка включає контроль за активністю ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів.

**Ключові слова:** перекисне окиснення ліпідів, оксидативний стрес, кластерні сполуки Ренію, карцинома Герена, каталаза, супероксиддисмутаза,

ЦИСПЛАТИН.

## ABSTRACT

**Shamelashvili K. L. Oxidative stress regulation in blood of tumor-bearing rats under influence of the rhenium-platinum system.** – Qualification scientific paper, manuscript.

Thesis for a Candidate Degree in Biology: Speciality 03.00.04. - Biochemistry (Biology). - Dnipropetrovsk Medical Academy, the Ministry of Health of Ukraine; Oles Honchar Dniprovsk National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine; V. N. Karazin Kharkiv National University, the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kharkiv, 2019.

Dissertation is devoted to investigation of the influence of cluster rhenium(III) compounds with organic ligands under different forms of introduction on activity of antioxidant enzymes of red blood cells in tumor-bearing rats during development of ordinary and cisplatin-resistant Guerink carcinoma; their catalase activity and interaction with native catalase.

The work was performed on Wistar rats weighing 100-150 g under standard vivarium conditions. Tumor growth was modeled by transplantation of Guerink carcinoma (T8) and cisplatin resistant Guerink carcinoma (T8r). Cluster Rhenium (III) compounds and cisplatin were administered in three ways. : Method 1 is the introduction of a compound of Re. Method 2 is the introduction of Re-Pt components where cisplatin was administered once in aqueous solution at 9 days after tumor transplantation, and the Rhenium compound was administered tenfold. Method 3 is the introduction of the Re-Pt system in the form of mixed nanoliposomes and nanoparticles, where both cytostatics were inside the lipid nanocapsule.

It has been established that the introduction separately of Rhenium compounds with the tetrahydrobutyric ligand ( $\text{Re}_{\text{tetrahydrobut}}$ ) in liposomal forms, of nanoliposomes and solid nanoparticles was not effective in suppressing the growth

of Guerink's carcinoma, however, it resulted in a 2.7-4.6 fold decrease in the intensity of lipid peroxidation compared to the group tumor-bearing rats. Introduction of the components of the system Re-Pt by method 2 resulted not only in significant inhibition of tumor growth but also in the significant reduction (normalization) of the concentration of peroxide oxidation of lipids products. We explain the efficiency of cluster rhenium(III) compounds as antioxidants by the unique antiradical properties of the quaternary bond in their composition. Encapsulation of the Re-Pt system into one liposome or solid nanocapsule (nanobin) did not lead to the loss of anti-carcinogenic and antioxidant properties of its components, except for experiments where the amount of cisplatin inside the nanocapsule was increased and where mixed nano particles were injected per os.

Introduction of the system of Rhenium-Platinum and its components resulted in an increase in the activity of superoxidedismutase in red blood cells (up to 3 magnitude) and in reducing the activity of catalase (in 1,5 times) compared with control and increase in the activity of superoxidedismutase (3,5 times) in comparable to a group of tumor-bearing rats. It was noted that the introduction of  $\text{Re}_{\text{tetraiso-but}}$  did not lead to significant activation of catalase compared with the group of tumor-bearing rats.

The introduction of cluster rhenium(III) compounds with adamantyl, indolyl and ferulyl ligands is accompanied by suppression of tumor growth, a decrease in the intensity of peroxide oxidation of lipids, and an increase in the activity of superoxidedismutase, which is practically no different from the influence of cluster rhenium(III) compounds with alkyl ligands and  $\text{Re}_{\text{tetraiso-but}}$ . However, these compounds, especially the compound with ferulyl ligands, differ in that their administration, not only with cisplatin alone, but also almost completely inhibits tumor growth.

The difference in the regulation of oxidative stress by Rhenium compounds with biologically active ligands is a significant increase in the activity of catalase (up to 3.5 times) compared with the T8 group. Such an increase in the activity of the antioxidant enzyme is characteristic of all methods of introducing cluster

rhodium(III) compounds with biologically active ligands, but the most significant increase is observed with the method introduced 2. Another difference from the influence of cluster rhodium(III) compounds with alkyl ligands is a significant increase in the activity of glutathione peroxidase, which is particularly characteristic for administration of the compound with ferulic ligands - in 2-24 times compared with a group of tumor-bearing rats.

The activity of superoxide dismutase and catalase in erythrocytes of rats in the development of cisplatin-resistant Guerin carcinoma was higher by 5 times and by 40 %, respectively, in comparison with the control group. It should be emphasized that the development of a common and cisplatin-resistant Guerin carcinoma has a different effect on the activity of catalase. For normal carcinoma, inhibition of activity of the enzyme is characteristic, and for resistance, on the contrary, activation in comparison with the control group. Also, a different response from the enzyme system of erythrocytes to cytostatics is shown. For example, for the introduction of Re-Pt in the form of nanoliposomes and nanoparticles, the activity of catalase increases by an average of 4.3 times compared with the control group and three times as compared to the T8r group, which was not the case with the development of a typical Guerin carcinoma. On the contrary, the activity of glutathione peroxidase decreases with the development of cisplatin-resistant Guerin carcinoma, both in comparison with control and with the group of tumor rats.

The study of the reaction of the decomposition of hydrogen peroxide showed that cluster rhodium(III) compounds have their own catalase activity, which is 40 % higher than that of native catalase and exceeds the known bioremediation based on Cerium compounds. Cluster rhodium(III) compounds interact with native catalase to form complexes, which exceed the activity of catalase in 2-4 times.

The spectra of native catalase in absorption of protein aromatic acids (260-290 nm) and absorption of geminal groups (340-420 nm) were investigated. In our experiment, we observe an increase in absorption intensity and a slight shift in the maximum from 275 nm to 278 nm in the long-wave absorption region.

This indicates the formation of a new complex of catalase -  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  with a more orderly conformation. That is, the addition of  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  to His residues not only does not disrupt the ordering of the protein globule, but contributes to its strengthening, that is, orderliness. Such a change in the conformation of the protein globulins of tetrameric catalase is reflected in an increase in its catalytic activity. The addition of the Rhenium compound increases the absorption intensity in the region of geminic groups (340-420 nm) and the formation of new absorption maxima at 340, 362, 390, 408 nm, which confirms the previous conclusion about the formation of the catalase complex with  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ . In the case of violation of the active hemo-complex complex, the decrease in the absorption intensity in the Soret band was observed, then the increase in the absorption rate in this band in our experiments indicates an increase in the  $\pi$ -conjugation of porphyrin rings in the active center of the enzyme and the formation of an active center with a higher electron density  $\pi$  - conjugated hema. The data obtained by us point to the prospect of further research on the catalase activity of other representatives of the structural types of cluster rhenium(III) compounds, since, as is shown in our works, dicarboxylates have antioxidant properties less pronounced than tetracarboxylates, tricarboxylates, and t. Also, the actual direction of further research is to find out the mechanism of activation of catalase, since with so-called medical practice, the phenomenon of activation of native enzymes of the body may be more important than the value of its own catalase activity of biomimetic.

The antioxidant properties of Rhenium compounds with adamantine, indole and ferulite ligands were investigated for the first time, and the possibility of enzyme activation of antioxidant protection of red blood cells has been established for their administration to rat tumor carriers. For the first time, it has been shown that, regardless of the form of administration, in particular in the form of liposomes and solid nanoparticles containing several cytostatics, cluster compounds of Rhenium retain strong antioxidant properties. We have shown for the first time the different response of the antioxidant system of protection of red blood cells from superoxide anion and hydrogen peroxide to the administration of cytostatics for the

development of normal and resistant carcinoma, which can make a definite contribution to understanding the biochemical features of the development of resistant tumors. The catalase activity of the Rhenium(III) cluster compound of dicarboxylate structural type is shown for the first time, which is greater than that for known Cerium-based biomimetics. For the first time, for metal-containing compounds, Rhenium(III) cluster compounds were shown to interact with a native protein catalase with a following significant increasing (up to 2.5 times) of the catalase activity of the complex formed.

The obtained results formed the theoretical basis for the directed synthesis of antitumor drugs based on Rhenium cluster compounds with biologically active ligands that simultaneously possess anti-tumor, antioxidant properties and regulate the redox state of red blood cells for the development of tumors, in particular, resistant to cisplatin. The prospect of the creation of synthetic low molecular weight biomimetics based on Rhenium cluster compounds that have both catalase superoxide dismutase activity and activates the antioxidant enzyme system of tumor erythrocytes was shown. A definite contribution has been made to the research methodology of anticancer drugs, which included monitoring of the activity of enzymes of antioxidant protection of red blood cells.

**Key words:** peroxide oxidation of lipids, oxidative stress, cluster rhenium substances, Guerink carcinoma, catalase, superoxidedismutase, cisplatin.

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці у наукових фахових виданнях України:*

1. Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л.**, Скорик О. Д., Ніколенко О. І., Штеменко Н. І. Цитостабілізуючі властивості кластерних сполук ренію як інгібіторів перекисного окиснення ліпідів у процесі зберігання // Вісник ДНУ. Серія: Біологія. Медицина 2011. Т. 2, Вип. 2. С. 56-62. *(Здобувачем виконано моделювання пухлинного росту, експериментальну частину роботи стосовно дослідження вмісту ТБК-активних продуктів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

1а. **Шамелашвілі К. Л.**, Семенов С. С., Чугуз О. О., Лоскутова Т. О., Штеменко Н. І. Стан коагуляційного гомеостазу при канцерогенезі та застосуванні системи реній-платина у наноформах // Вісник ДНУ Серія: Біологія. Медицина. 2011. Т. 2, Вип. 2. С. 110-116. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження вмісту ТБК-активних продуктів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

2. **Шамелашвілі К. Л.**, Лоскутова Т. О., Штеменко Н. І. Корреляция показателей системы гомеостаза с маркерами перекисного окисления липидов у беременных с преэклампсией // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. 2013. Вип. 17, № 1056. С. 196-201. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

3. Грабовська О. І., Скорик О. Д., **Шамелашвілі К. Л.**, Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Біохімічні характеристики крові щурів з резистентною карциномою Герена за введення протипухлинної системи Реній-Платина // Вісник проблем біології та медицини. 2017. Вип. 1 (135). С. 124-131.

*(Здобувачем виконано ведення експериментальних речовин, проведенні дослідження активності ферментів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

4. **Шамелашвілі К. Л.**, Шаторна В. Ф., Грабовська О. І., Штеменко Н. І. Характеристика оксидативного стресу еритроцитів щурів-пухлиноносіїв за введення кластерних сполук ренію(ііі) з біологічно активними лігандами // Вістник проблем біології і медицини. 2018. Вип.4, Т. 2(147). С. 197-200. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

*Наукові праці у виданнях, що входять до міжнародних наукометричних баз:*

5. Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л.**, Скорик О. Д., Третьак С. Ю., Голіченко О. А., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена // Укр. біохім. журн. 2012. Т. 84, № 3. С. 87-96. (Leus I. V. , Shamelashvili K. L., Skorik O. D., Tretyak S. Y., Golichenko O. A., Shtemenko O. V. , Shtemenko N. I. Antioxidant and antitumor activity of dirhenium dicarboxylates in animals with Guerin carcinoma // Ukrain'skyi Biokhimichnyi Zhurnal. 2012. Vol. 84(3). P. 72-81.) (Scopus). *(Здобувачем виконано моделювання пухлинного росту, експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів in vivo, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

6. **Shamelashvili K. L.**, Shtemenko N. I., Leus I.V., Babiyy S.O., Shtemenko O.V. Changes in oxidative stress intensity in blood of tumor-bearing rats following different modes of administration of rhenium-platinum system // Ukrainian Biochemical Journal. 2016. Vol. 88, N 4. P. 29-39. (Scopus). *(Здобувачем виконано моделювання пухлинного росту, експериментальну частину роботи*

*стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів in vivo, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

*Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:*

**7. Шамелашвілі К. Л.,** Леус І. В., Жабитська О. Д., Штеменко Н. І. Ферменти антиоксидантного захисту у моделі пухлинного росту // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології : українська міжнародна конференція, 30-31 жовтня 2008 р. : тези доп. Дніпропетровськ, 2008. С. 73-А. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

**8. Семенов С. С., Шамелашвілі К. Л.,** Штеменко Н. І. Зміни активності антиоксидантних ферментів крові в моделі пухлинного росту // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : матеріали І міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів та молодих учених, Т. 2, 23-26 лютого 2009 р. Донецьк, 2009. С. 61. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

**9. Шамелашвілі К. Л.,** Штеменко Н. І. Застосування наноліпосом та твердих наночасток, навантажених реній-платиновою протипухлинною системою у моделі пухлинного росту // Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології : Х ювілейна наукова конференція молодих онкологів України за участю міжнародних спеціалістів, 22-24 квітня 2010 г. : тези доп. Київ, 2010. С. 61. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

10. **Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І.** Протипухлинні та антиоксидантна активність системи реній-платина // Укр. біохім. журнал. 2010. Т. 82, № 4 (додаток 2). С. 322. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

11. **Шамелашвили К. Л., Леус И. В., Скорик Е. Д., Николенко Е. И.** Интенсивность оксидативного стресса при торможении опухолевого роста соединениями рения // Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования : материалы международной научно-практической конференции. Ч.1, 31 марта – 1 апреля 2011 р. Курск, 2011. С. 238-242. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

12. Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І.** Цитостабілізуючі властивості кластерних сполук ренію // Сучасні проблеми природничих наук : матеріали VI всеукраїнської студентської наукової конференції, 5-6 квітня 2011р. Ніжин, 2011. С. 78. *(Здобувачем зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до написання тез).*

13. Skorik O., Leus I., **Shamelashvili K., Shtemenko N.** Mechanism of oxidative stress as a nonspecific reply on exogenous influence // Environmental and food security and safety in southeast Europe and Ukraine : abstr. NATO Advanced Research Workshop (ARW). 15-19 may 2011. Dnepropetrovsk'k, 2011. P. 79. *(Здобувачем зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до написання тез)*

14. **Шамелашвілі К. Л., Леус І. В., Скорик Е. Д., Штеменко Н. І.** Оксидативний стрес та його корекція сполуками ренію при канцерогенезі // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : матеріали II міжнародної наукової конференції студентів,аспірантів та молодих учених, 19-22 вересня 2011р. Донецьк, 2011. С. 122. *(Здобувачем проведено*

*дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

15. **Шамелашвілі К. Л.**, Леус І. В., Штеменко Н. І. Вплив сполук ренію на антиоксидантну систему щурів при розвитку карциноми Герена // Шевченківська весна 2012 : Х міжнародна конференція студентів та молодих науковців, 19-23 березня 2012 р. : тези доп. Київ, 2012. С. 331. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

16. Леус І. В., Ніколенко О. І., **Шамелашвілі К. Л.**, Скорик О. Д., Штеменко Н. І. Вплив алкільних цис-дикарбоксилатів диренію на антиоксидантну систему у щурів при розвитку новоутворення // Молодь і поступ біології : VIII міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів , 3-6 квітня 2012 р. : тези доп. Львів, 2012. С. 60-61. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

17. Орлова М. В., Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л.**, Горіла М. В., Штеменко Н. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту при введенні системи реній-платина у щурів з карциномою Герена // Сучасні проблеми природничих наук : матеріали VIII всеукраїнської студентської наукової конференції, 17-18 квітня 2013 р. Ніжин, 2013. С. 69. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

18. **Шамелашвілі Карина**, Леус Інга, Скорик Олена, Штеменко Наталія Стан системи антиоксидантного захисту крові під дією системи реній-платина // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології : друга міжнародна наукова конференція, 24-25 вересня 2013 р. : тези доп.

Днепропетровск, 2013. С. 73. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

19. **Шамелашвілі К. Л.**, Орлова М. В., Леус І. В., Горіла М. В., Штеменко Н. І. Ензими антиоксидантного захисту крові в щурів із резистентною карциномою Герена за введення системи Реній-Платина // Укр. біохім. журнал. 2014. Т. 86, № 5 (додаток 1). С. 226. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

20. **Шамелашвілі К.**, Орлова М., Єрмак І., Горіла М., Штеменко Н. Вплив кластерної сполуки ренію з ферулатними лігандами і цисплатину на систему антиоксидантного захисту пухлино носіїв // Молодь і поступ біології: XI міжнародна конференція студентів і аспірантів, 20-23 квітня 2015 р. : тези доп. Львів, 2015. С. 130. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

21. Орлова М. В. **Шамелашвілі К. Л.**, Горіла М. В., Штеменко Н. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту щурів за умов введення системи реній - платина зі звичайною та резистентною до цисплатину карциномою герена // III Міжнародний форум студентів, аспірантів і молодих учених, 23-24 квітня 2015 р. : тези доп. Дніпропетровськ, 2015. С. 437-439. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

22. Величко О. В., Штеменко Н. І., **Шамелашвілі К. Л.**, Штеменко О. В. Каталазна активність деяких кластерних сполук диренію(III) // Вопросы химии и химической технологи. 2017. – Т. 3 (112). С. 4-9. (Velichko O. V., Shtemenko N. I., Shamelashvili K. L., Shtemenko O.V. Catalase activity of some rhenium (III) clusters / Voprosy Khimii I Khimicheskoi Tekhnologii. 2017. Vol. 3(112). P. 4-9). (Scopus). *(Здобувачем проведено дослідження каталазної активності сполук Ренію та підготовлено матеріали до друку).*

23. Leus I., Zabitskaya E., Collery P., **Shamelashvili K.**, Egorova D., Shtemenko N. Investigation of antioxidant properties of the cluster rhenium compound in the model of tumor growth // Metal Ions in biology and medicine. 2008. Vol. 10. P. 399-402. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, написання рукопису статті).*

24. **Шамелашвили К. Л.**, Скорик О. Д., Ніколенко О. І., Кононова Г. С. Вплив сполук ренію з ацетофосфатним лігандом на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та ріст пухлини у щурів з карциномою Герена // Хімічні проблеми сьогодення : четверта Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів та молодих науковців, 16-18 березня 2010 р. : тези доп. Донецьк, 2010. С. 267. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

25. **Шамелашвілі К. Л.** Utilisation nanoliposom et solid nanopaticules charges antitumorale reni-platinovschyu systeme dans la tumeur models. // Актуальні дослідження в сфері соціально-гуманітарних наука: матеріали Регіональної студентської наукової конференції, 29-30 квітня 2010 р. Дніпропетровськськ, 2010. С. 236. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                                              |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....                                                                                                                               | 21 |
| ВСТУП .....                                                                                                                                                  | 22 |
| РОЗДІЛ 1. РЕГУЛЯЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ<br>ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІЇВ ЗА ВВЕДЕННЯ<br>ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА<br>(літературний огляд)..... | 29 |
| 1.1 Загальні принципи регуляції оксидативного стресу в<br>еритроциті.....                                                                                    | 29 |
| 1.2 Кластерні сполуки Ренію з алкільними лігандами як<br>антиоксиданти.....                                                                                  | 35 |
| 1.3 Навантажені ліпосоми та наночастки як ефективні<br>антиканцерогенні препарати.....                                                                       | 41 |
| 1.4 Будова каталази та її роль як<br>антиоксиданта.....                                                                                                      | 44 |
| Висновки до розділу 1.....                                                                                                                                   | 49 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ.....                                                                                                                           | 50 |
| 2.1 Матеріали .....                                                                                                                                          | 50 |
| 2.2 Модель пухлинного росту .....                                                                                                                            | 52 |
| 2.3 Визначення активності каталази.....                                                                                                                      | 54 |
| 2.4 Визначення ТБК-активних продуктів в плазмі<br>крові.....                                                                                                 | 55 |
| 2.5 Визначення ТБК – активних продуктів у еритроцитах<br>крові.....                                                                                          | 57 |
| 2.6 Визначення активності супероксиддисмутази в<br>еритроцитах.....                                                                                          | 58 |
| 2.7 Метод визначення активності глутатіонпероксидази.....                                                                                                    | 60 |
| 2.8 Метод визначення активності каталази в експериментах<br><i>in vitro</i> .....                                                                            | 61 |
| 2.9 Спектральні дослідження .....                                                                                                                            | 62 |

|                                                                                                                                                                                                                                                         |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 2.10 Статистична обробка результатів.....                                                                                                                                                                                                               | 62  |
| Висновки до розділу 2.....                                                                                                                                                                                                                              | 63  |
| РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ.....                                                                                                                                                                                                                 | 64  |
| 3.1. Регуляція оксидативного стресу крові щурів-<br>пухлиноносіїв за введення протипухлинної системи Реній-<br>Платина і розвитку карциноми Герена .....                                                                                                | 64  |
| 3.1.1 Вплив способу введення кластерних сполук<br>Ренію і системи Реній-Платина на інтенсивність оксидативного<br>стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту за<br>розвитку карциноми Герена.....                                          | 64  |
| 3.1.2 Вплив кластерних сполук Ренію з<br>адамантильними лігандами і системи Реній-Платина на<br>інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та<br>активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку<br>карциноми Герена.....            | 77  |
| 3.1.3 Вплив кластерних сполук Ренію з ферулатними<br>та індольними лігандами і системи Реній-Платина на<br>інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та<br>активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку<br>карциноми Герена..... | 87  |
| 3.2 Активність ферментів антиоксидантного захисту за<br>розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена та<br>введення цитостатиків.....                                                                                                           | 94  |
| 3.3 Вплив кластерних сполук Ренію на активність нативної<br>каталази.....                                                                                                                                                                               | 101 |
| Висновки до розділу 3.....                                                                                                                                                                                                                              | 107 |
| РОЗДІЛ 4. ЗАКЛЮЧЕННЯ.....                                                                                                                                                                                                                               | 110 |
| Висновки до розділу 4.....                                                                                                                                                                                                                              | 116 |
| ВИСНОВКИ.....                                                                                                                                                                                                                                           | 118 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....                                                                                                                                                                                                                         | 120 |

|                                                              |     |
|--------------------------------------------------------------|-----|
| ДОДАТОК 1 Список публікацій здобувача за темою дисертації... | 142 |
| ДОДАТОК 2 Акт впровадження .....                             | 151 |

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АОС – антиоксидантна система

АФА – активні форми азота

АФК – активні форми кисню

ГП – глутатіонпероксидаза

ДНК – Дезоксирибонуклеїнова кислота

КАТ – каталаза

ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів

СОД – супероксиддисмутаза

ТБК – тіобарбітурова кислота

ТЕМЕД – тетраметилетилендіамін

CisPt – цисплатин

Re-Pt – реній-платинова система (група сполук)

ДТНБ – гідропероксид трет-бутилу

ГПТБ – дітіонітробензойна кислота

ТХО – три хлороцтова кислота

ЕСП – Електронні спектри поглинання

## ВСТУП

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** Відомо, що металоорганічні речовини представляють собою перспективний клас антиканцерогенних сполук, оскільки атом(и) металу у їхньому складі обумовлюють значно більший редокс-потенціал, ніж мають суто органічні молекули [106], а регуляція редокс-стану ракової клітини і малігнізованих тканин відноситься до однієї з найперспективніших стратегій антиракової терапії [132, 68]. У роботах наукової групи професора Штеменко Н.І. показано антиканцерогенну активність кластерних сполук Ренію, що містять унікальний почверний зв'язок, розроблено ефективну протипухлинну систему Реній-Платина (сумісне введення сполук Ренію з цисплатином) та вперше продемонстровано потужні антиоксидантні властивості сполук Ренію, які є основою їх гепато-, нефропротекторних властивостей та антигемолітичної активності [160]. Нещодавно отримано нові наноліпосоми і тверді наночастки, що містять всередині сполуки Ренію і цисплатин, так звані «нанобіни» [116]. Актуальним питанням є: чи зберігаються перераховані вище корисні властивості кластерних сполук Ренію та системи Реній-Платина за їхнього введення у вигляді нанобінів. Нещодавно колегами – хіміками Українського державного хіміко-технологічного університету (УДХТУ) отримано нові сполуки ряду цис- дикарбоксилатів диренію(III) з заміщеними адамантильними, індольними і ферулатними лігандами, які ми умовно називаємо «біологічно активними лігандами». Таку назву ми вважаємо доцільною, тому що вищеназвані ліганди входять до складу багатьох природних і синтетичних біологічно активних, зокрема, антиканцерогенних речовин[55, 125]. Оскільки антиоксидантні властивості сполук Ренію з такими лігандами не вивчалися, актуальним і своєчасним стало дослідження антиоксидантних властивостей кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами.

Відомо, що еритроцит є клітиною, редокс-стан якої віддзеркалює редокс-стан усього організму [54] . Отже, дослідження інтенсивності процесу

перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) і активності ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів у щурів-пухлиноносіїв за введення цитостатиків дає уявлення про можливість регуляції оксидативного стресу всього організму за розвитку новоутворень. Центральною проблемою у хіміотерапії є явище хеморезистентності [111, 178]. У наших роботах показано, що за розвитку як звичайної, так і резистентної до цисплатину карциноми Герена відбувається посилення процесів ПОЛ в еритроцитах, але цей процес йде повільніше за розвитку резистентного штаму, ніж звичайного [4]. Проте, ферментативна система захисту еритроцитів у цих експериментах не вивчалася. Тому дослідження антиоксидантної системи захисту еритроцитів за розвитку резистентної до цисплатину пухлини є актуальним у зв'язку з можливістю дослідження біохімічних властивостей явища резистентності у щурів-пухлиноносіїв та його подолання. Визначення антиоксидантного, протизапального, антиканцерогенного впливу супероксиддисмутази (СОД) та каталази (КАТ) призвело до інтенсивного пошуку їхніх низькомолекулярних біоміметиків на основі металоорганічних сполук. Саме металоорганічні сполуки є базою для створення таких міметиків, оскільки СОД і КАТ є метало протеїдами [133]. Тому актуальним було визначити: чи мають кластерні сполуки Ренію(III) власну каталазну активність та чи відбувається гальмування або активація нативної каталази за їхнього впливу.

Отже, дослідження біохімічних параметрів оксидативного стресу еритроцитів щурів-пухлиноносіїв за введення протипухлинної системи Реній-Платина та її компонентів різними способами є актуальним напрямком сучасної біохімії.

**Мета та завдання дослідження.** Мета роботи – визначення антиоксидантних властивостей кластерних сполук Ренію та їхню каталазну активність.

Відповідно до мети було поставлено наступні завдання:

1. Дослідити вплив різних форм введення сполуки Ренію

(наноліпосоми, тверді наночастки, нанобіни) окремо і разом з цисплатином на інтенсивність ПОЛ та активність СОД, КАТ і глутатіонпероксидази (ГП) крові щурів-пухлиноносіїв.

2. Дослідити вплив кластерних сполук Ренію з адамантильними індольними та ферулатними лігандами і системи Реній-Платина на інтенсивність ПОЛ та активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за їхнього введення щурам-пухлиноносіям із звичайною карциномою Герена.

3. Дослідити вплив цис-дикарбоксилатів диренію(III) з різними лігандами на активність системи антиоксидантного захисту еритроцитів пухлиноносіїв із резистентною карциномою Герена.

4. Визначити каталазну активність цис-дикарбоксилатів диренію(III).

5. Дослідити взаємодію ренієвих сполук із нативною каталазою *in vitro*.

*Об'єкт дослідження* – антиоксидантні властивості кластерних сполук Ренію за введення різними способами в експериментальних моделях канцерогенезу; антиоксидантна активність кластерних сполук Ренію і протипухлинної системи Реній-Платина за умов експериментальної моделі канцерогенезу на щурах лінії Вістар; каталазна активність сполук Ренію та взаємодія з нативною каталазою.

*Предмет дослідження* – кластерні сполуки Ренію(III), плазма та еритроцити щурів, інтенсивність перекисного окиснення ліпідів, супероксиддисмутаза, каталазна, глутатіонпероксидазна активність в еритроцитах, нативна каталаза.

**Методи дослідження.** Експериментальні моделі канцерогенезу (розвиток звичайної та резистентної карциноми Герена). Фотоколориметричні методи – для визначення вмісту ТБК-активних продуктів та активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази) в крові щурів. Спектральні для визначення спектрів поглинання дослідних речовин. Ензиматичні для вивчення ферментативних властивостей дослідних сполук. Здійснено вибір

методів, що забезпечують достовірність отриманих результатів та висновків.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Вперше досліджено антиоксидантні властивості сполук Ренію з адамантильними, індольними та ферулатними лігандами та встановлено активацію ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за їхнього введення щурам-пухлиноносіям. Вперше показано, що незалежно від форми введення, зокрема у вигляді ліпосом і твердих наночасток, що містять декілька цитостатиків, кластерні сполуки Ренію зберігають потужні антиоксидантні властивості. Вперше показано вплив природи органічних лігандів, розташованих в цис-положенні навколо кластерного фрагмента диренію(III), на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів. Також вперше показано різний відгук антиоксидантної системи захисту еритроцитів щурів-пухлиноносіїв на введення цитостатиків за розвитку звичайної і резистентної карциноми. Введення кластерної сполуки Ренію з ферулатним лігандом активувало систему глутатіонового захисту еритроцитів, що раніше не спостерігалось для щурів-пухлиноносіїв. Вперше показано каталазну активність кластерної сполуки Ренію(III) структурного типу цис-дикарбоксилатів, яка перевищує таку для відомих біоміметиків на основі Церію. Вперше для металоорганічних сполук на прикладі кластерних сполук Ренію(III) показано, що вони можуть взаємодіяти з нативним білком каталазою із значним підвищенням (до 2,5 разів) каталазної активності утвореного комплексу.

**Біоетична експертиза.** На своєму засіданні (протокол № 4 від 25 жовтня 2017 р.) комісія з питань етики установи ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» розглянула дисертаційну роботу здобувача Шамелашвілі Карини Леонідівни та вважає її такою, що відповідає принципам Гельсінської декларації, прийнятої Генеральною асамблеєю Всесвітньої медичної асоціації (1964-2000 рр.), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997 р.), відповідним положенням ВООЗ, Міжнародної ради медичних наукових товариств, Міжнародного кодексу

медичної етики (1983 р.) та законам України. Передбачені заходи забезпечують раціональне використання та гуманне поводження з лабораторними тваринами у відповідності до законодавства України [Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорсткого поводження» / Відомості Верховної Ради України. – 2006. - № 27. – с. 230], правил Європейської Конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних дослідженнях та з іншою науковою метою [European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Council of Europe, Strasbourg, 1986. – 53 p.]. Ставлення до тварин згідно рекомендацій II національного конгресу України з біоетики (Київ, 29 вересня – 2 жовтня 2004) // Журнал АМН України. – 2004. – Т.10, № 4. – С.827-829).

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантка самостійно опрацювала літературу за темою дисертаційної роботи, виконала експериментальну частину, аналіз і статистичну обробку отриманих результатів. Обговорення отриманих результатів проведено спільно з науковим керівником, д.б.н., проф. Н. І. Штеменко.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали, викладені в дисертаційній роботі, було представлено на науково-практичних конференціях: Всеукраїнська наукова конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології» (Дніпропетровськ, 2008); Міжнародна наукова конференція «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (Донецьк, 2009); X Український біохімічний з'їзді (Одеса, 2010); Четверта Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів та молодих науковців «Хімічні проблеми сьогодення» (Донецьк, 2010); X юбилейная научная конференция молодых онкологов Украины с участием международных специалистов «Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології» (Київ, 2010); Регіональна студентська наукова конференція «Актуальні дослідження в сфері соціально-гуманітарних наук» (Дніпропетровськ, 2010);

Міжнародна научно-практична конференція «Теоретическіе і прикладні проблеми ссовременної науки і освіти» (Курськ, Росія, 2011); VI Всеукраїнська студентська наукова конференція «Сучасні проблеми природничих наук» (Ніжин, 2011); NATO Advanced research workshop (ARW) “Environmental and food security and safety in southeast Europe and Ukraine” (Дніпропетровськ, 2011); II міжнародна конференція студентів, аспірантів та молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології» (Донецьк, 2011); X Міжнародна наукова конференція студентів та молодих науковців «Шевченківська весна» (Київ, 2012); VIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2012); VIII всеукраїнська студентська наукова конференція «Сучасні проблеми природничих наук» (Ніжин, 2013); друга Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології» (Дніпропетровськ, 2013); XI Український біохімічний конгрес (Київ, 2014); XI міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології» (Львів, 2015), III Міжнародний форум студентів, аспірантів і молодих учених (Дніпропетровськ, 2015).

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, 4 розділів, загальних висновків, списку використаних джерел та двох додатків. Обсяг загального тексту дисертації складає 152 сторінку, з них основного тексту 103 сторінки. Робота ілюстрована 23 таблицями та 16 рисунками. Список використаних джерел містить 191 найменувань.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біофізики та біохімії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара у рамках держбюджетних тем: «Наноліпосоми та тверді наночастки, навантажені системою Реній-Платина у моделях гепато-, нефропатій та гемолітичних анемій» (номер державної реєстрації 0113U003034, здобувач-виконавець); згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри медичної біології, фармакогнозії та ботаніки ДЗ «Дніпропетровської медичної академії

МОЗ України» у рамках держбюджетної теми: «Біологічні основи морфогенезу органів та тканин під впливом нанометалів в експерименті» (номер державної реєстрації 0115U004879, здобувач-виконавець).

**Практичне значення одержаних результатів.** Виконана робота вносить певний вклад у розвиток біохімії, зокрема біонеорганічної хімії і має практичне значення. Отримані результати становлять теоретичну основу спрямованого синтезу протипухлинних препаратів на основі кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами, які одночасно володіють протипухлинними, антиоксидантними властивостями та регулюють редокс-стан еритроцитів за розвитку новоутворень, зокрема, резистентних до цисплатину. Показана перспективність створення синтетичних низькомолекулярних біоміметиків на основі кластерних сполук Ренію, які мають одночасно каталазну, супероксиддисмутазну активність та активують антиоксидантну ферментативну систему еритроцитів в організмі пухлиноносіїв. Показані відмінності у функціонуванні ферментативної системи еритроцитів пухлиноносіїв із звичайною та резистентною до цисплатину карциномою, що може зробити певний внесок у розуміння біохімічних особливостей розвитку резистентних до цитостатиків новоутворень. Зроблено певний внесок в методологію дослідження протипухлинних засобів, яка включає контроль за активністю ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів. Матеріали використовуються у наукових дослідженнях кафедр Тернопольського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського та Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (підтверджено актами впровадження).

## РОЗДІЛ 1

### РЕГУЛЯЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ ЕРИТРОЦИТІВ ЩУРІВ-ПУХЛИНОНОСІЇВ ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА (літературний огляд)

#### 1.1 Загальні принципи регуляції оксидативного стресу в еритроциті

Оксидативний стрес представляє собою явище, яке інтенсивно вивчається з величезною кількістю експериментальних робіт і оглядів, що часто з'являються у друці [59, 61, 80, 138, 145, 164, 189]. Це обумовлено тим, що оксидативний стрес включений у патогенез найбільш поширених захворювань людини, таких як атеросклероз і гіпертензія, діабет, рак та інші.

Оксидативний стрес визначається як дисбаланс між утворенням вільних радикалів і реактивних метаболітів, так званих окиснювачів або активних форми кисню (АФК), та їх усунення за допомогою захисних механізмів організму та антиоксидантів. Цей дисбаланс призводить до пошкодження важливих біомолекул і клітин, з потенційним впливом на весь організм [72].

Відомо, що АФК є продуктами нормального клітинного метаболізму і відіграють життєво важливу роль в стимулюванні сигнальних шляхів в рослинних і тваринних клітинах у відповідь на зміни внутрішньо - і позаклітинних умов навколишнього середовища [100]. Більшість АФК генеруються при перенесенні електронів на молекулярний кисень в дихальному ланцюзі, який розташований в мембранах мітохондрій [143]. В ході ендогенних метаболічних реакцій аеробні клітини виробляють АФК, такі як: супероксид-аніон-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), гідроген пероксид ( $H_2O_2$ ), гідроксильний радикал ( $OH^{\cdot}$ ) і органічні перокси, як нормальні продукти біологічного відновлення молекулярного кисню [85]. В умовах гіпоксії, дихальний ланцюг мітохондрій також виробляє оксид азоту (NO), який може генерувати інші активні форми азоту (АФА) [94, 143].

Згідно літературних джерел для оксидативного стресу можна застосувати класифікації [122,123]. Так, часова класифікація описує гострий та хронічний стреси, а класифікація за інтенсивністю включає в себе базальний оксидативний стрес, легкий оксидативний стрес, сильний оксидативний стрес і, нарешті, дуже сильний оксидативний стрес. Гострий стрес – при дії деяких зовнішніх або внутрішніх чинників, рівень АФК підвищується і перевищує нормальний діапазон, що викликає каскад клітинної відповіді. Якщо захисний антиоксидантний потенціал клітини досить високий, рівень АФК через секунди, хвилини або години повертається до вихідного рівня. Але в певних умовах виникає ситуація, коли клітина не може повернути концентрацію АФК на початковий рівень, і він залишається вище, ніж у контрольній групі. Можна зробити висновок, що початковий рівень стабілізується на більш високому значенні концентрації АФК. Такий стрес може тривати протягом годин, діб і місяців. Це може привести до суттєвої реорганізації статуту клітин, які будуть пристосовуватися до нових умов. Зокрема, це може привести до посилення активності антиоксидантної системи. Такий тривалий стрес має назву "хронічний окислювальний стрес". Друга запропонована класифікація ґрунтується на інтенсивності окислювального стресу. На рисунку 1.1 показано розвиток окисного стресу в залежності від дози / концентрації індуктора стресу.

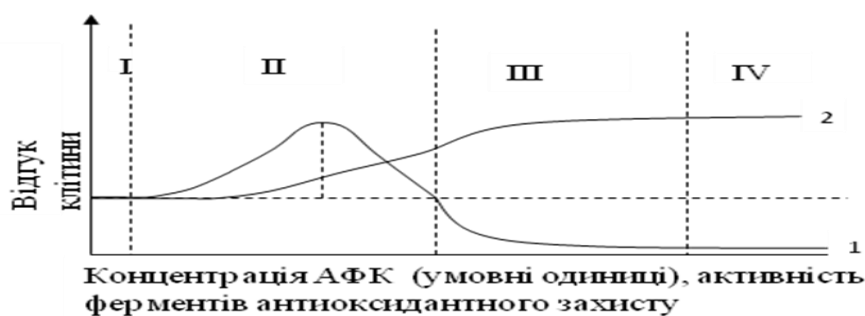


Рис. 1.1 Активність антиоксидантних ферментів та вміст АФК-модифікованих клітинних компонентів (умовні одиниці); 1 – концентрація АФК-модифікованих клітинних компонентів (ТБК-активні продукти, дисульфіді, карбонильовані білки, тощо.); 2 – активність антиоксидантних ферментів

Зона I відповідає стану клітини, де окислювальний стрес не може бути зареєстровано звичайними методами і називається базальним окислювальним стресом. Зона II відповідає низькій інтенсивності окисного стресу, де активність ферментів антиоксидантної системи (АОС) підвищується, а з ростом концентрації АФК починається їхнє пригнічення. Зона III відповідає проміжній інтенсивності окисного стресу. На цій стадії активність ферментів антиоксидантного захисту пригнічується, але є можливість повернення до зони II. І нарешті зона IV відповідає високій інтенсивності окисного стресу, яка супроводжується незворотними змінами пошкодженням клітинних компонентів [122, 123].

Найбільш широко визнані біологічні ефекти АФК, є ті, що виникають, коли система антиоксидантного захисту в клітині перевантажена і АФК реагують безпосередньо з клітинними ліпідами, білками і дезоксирібонуклеїновими кислотами, що призводить до пошкодження та загибелі клітин [92, 174], тобто, в зоні III і IV (Рис. 1.1). Перекисне окислення ліпідів, наприклад, являє собою добре охарактеризований ефект АФК, що призводить до пошкодження клітинної мембрани, а також до мембран клітинних органел [82]. До того ж, АФК можуть внести свій вклад в мутації, які трапляються в ДНК, наприклад, шляхом індукції розривів ДНК, окислення пуринів, а також інших АФК-опосередкованих змін в структурі хроматину, що може істотно вплинути на експресію гена [110, 147]. Модифікація білків за допомогою АФК може привести до критичної інактивації ферментів і може викликати їхню денатурацію [121, 172]. Старіння і пов'язані з віком зміни в серцево-судинній системі, були віднесені до довгострокових кумулятивних ефектів АФК, хоча відносний внесок АФК в процес старіння залишається предметом дискусій [112, 166].

Еритроцити, або червонокривці, є найбільш чисельними і найбільш спеціалізованими клітинами організму. Основна функція еритроцитів – транспорт кисню і діоксиду вуглецю. У процесі еритропоезу еритроцити втрачають ядро, рибосоми, мітохондрії і, відповідно, здатність до клітинного

поділу, синтезу білку і окислювальних процесів, що притаманні мітохондріям [171]. Внаслідок своєї фізіологічної ролі, еритроцити постійно знаходяться під впливом ендогенного оксидативного стресу: автоокислення оксигемоглобіну до метгемоглобіну генерує супероксидний аніон-радикал ( $O_2^{\cdot-}$ ), який представляє собою основне джерело вільних радикалів в еритроциті [153, 185]. Також еритроцити піддаються впливу вільних радикалів, які знаходяться в плазмі. Еритроцити можуть виступати як поглиначі позаклітинного  $H_2O_2$ , який вільно перетинає мембрани, та  $O_2^{\cdot-}$ . Це відбувається завдяки аніонним каналам. Ці канали виконують різні функції: прикріплення цитоскелету та обмін  $HCO_3^-$  на  $Cl^-$ . Проте  $O_2^{\cdot-}$  та  $NO_2^-$ , а також дуже токсичний  $ONOO^-$ , теж можуть проникати в еритроцити через ці канали. Після потрапляння до клітини,  $ONOO^-$  реагує з глутатіоном (GSH) та оксигемоглобіном. В результаті цієї реакції утворюються  $NO_3^-$ , метгемоглобін,  $H_2O_2$ . Оксидативний стрес, що виникає при патологіях, може пошкодити як еритроцит, так і інші біологічні молекули всього організму [135]. Нормальні еритроцити мають відновлюючу активність, що у 250 разів перевищує їхній окислювальний потенціал [139]. Проте, із посиленням інтенсивності оксидативного стресу еритроцитарна антиоксидантна система захисту є недостатньою і клітина накопичує і стає носієм позаклітинних супероксидного аніон-радикалу і гідроген пероксиду, які можуть транспортуватися через аніонний канал, або вільно перетинати мембрану, відповідно.

Рак - це багаторівневий процес, який поділяється щонайменше на три стадії: ініціювання, просування і прогресування. Окислювальний стрес відбувається на усіх трьох етапах цього процесу [88, 108, 118, 137, 169, 179, 186]. Під час стадії ініціації, наявність АФК може призвести до пошкодження ДНК шляхом мутацій генів або структурно змінивши ДНК. На етапі просування, АФК можуть сприяти ненормальній експресії гена, що призведе до збільшення проліферації клітин або зменшення апоптозів. Нарешті, окислювальний стрес може також брати участь в етапі

прогресування ракового процесу шляхом додавання додаткових варіацій ДНК в популяції ракових клітин. В останні роки отримано дані, які пов'язують хронічне запалення і рак через генерацію АФК. Дійсно, важлива характеристика пухлини полягає в її здатності використовувати запальні клітини і стимулювати їх до генерації АФК [152]. Однією з ключових особливостей пухлинних клітин є їх підвищена здатність до виживання у порівнянні з нормальними клітинами. АФК, як повідомляється, онкогенні в силу їхньої здатності збільшувати проліферацію клітин, виживання і клітинну міграцію. АФК можуть індукувати пошкодження ДНК, що призводить до генетичних ушкоджень, які, в свою чергу, ініціюють онкогенність і подальше прогресування пухлини. З іншого боку, АФК можуть також індукувати клітинне фізіологічне старіння і загибель клітин, і, отже, можуть функціонувати в якості анти-онкогенної речовини. Чи сприяють АФК виживанню пухлинних клітин, або виступати як анти-онкогенні агенти, залежить від клітини і тканини, від місця синтезу АФК та від їхньої концентрації.

За даними нашої групи [14, 27] розвиток карциноми Герена викликає оксидативний стрес в еритроцитах щурів та, як наслідок, підвищення концентрації ТБК-активних продуктів у 3 рази у порівнянні з контролем.

Для захисту організму від шкідливої дії АФК, існує антиоксидантна система (АОС), яка являє собою сукупну ієрархію захисних механізмів клітин, тканин, органів і систем, спрямованих на збереження і підтримання в межах норми реакцій організму [6, 109]. Вона включає внутрішньоклітинні антиоксидантні ферментні системи, які протидіють оксидативному стресу і знешкоджують АФК [74]. До антиоксидантних внутрішньоклітинних ферментів відносяться: супероксиддисмутаза (СОД), що здійснює інактивацію супероксидного радикала, каталаза (КАТ), що розкладає гідрогенпероксид, ферменти системи глутатіону [25, 138, 157]. Існує взаємозв'язок між оксидативним стресом та активністю АОС. Були виявлені

кореляційні зв'язки між інтенсивністю перекисного окиснення ліпідів та активністю супероксиддисмутази та каталази [36].

Антиоксидантна захисна система еритроциту здебільшого включає: Cu, Zn-SOD, яка в нормі підтримує концентрацію супероксидного радикалу на рівні  $10^{-13}$  моль/л; КАТ, що розкладає гідроген пероксид до води та кисню; за активністю цих ензимів еритроцит перевищує усі тканини організму, за виключенням печінки; глутатіонпероксидазу (ГП), яка каталізує ту саму реакцію, що й КАТ [170]. Слід зазначити, що активність цих ферментів в еритроцитах вища, ніж в більшості інших тканинах організму. Зміна активності цих ензимів призводить до дисбалансу редокс-статуту клітини і, як наслідок, всього організму [88]. Отже, дослідження ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів за різних патологій дає уявлення про редокс-статут всього організму. Роль еритроцитарних СОД і КАТ як антиоксидантних ензимів, що підтримують редокс-статут всього організму, підтверджується тим, що введення цих білків як лікарських препаратів призводить до антиоксидантного захисту всього організму [95]. Наприклад, введення ліпосом, навантажених СОД і КАТ, щурам з кисневою інтоксикацією (100 % кисень) значно підвищувало тривалість життя [180].

Чисельні роботи з вивчення активності ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів при різних патологіях, узагальнені в огляді [136], свідчать про те, що висока інтенсивність оксидативного стресу в організмі призводить до зниження активності СОД і КАТ еритроцитів та до дисбалансу роботи ензимів антиоксидантного захисту. Знайдено, що СОД, КАТ і ГП дезактивуються чималими концентраціями радикальних сполук. Наприклад, в молекулі СОД під впливом значних концентрацій гідроксильного радикалу відбувається окиснення гістидину 118 до 2-оксо-гістидину у активному центрі, що призводить до повної дезактивації ензиму [191].

Отже, враховуючи, що редокс статут еритроцитів віддзеркалює окисно-відновний стан всього організму, актуальним напрямком є вивчення оксидативного стресу та активності ферментів антиоксидантного захисту

еритроцитів за розвитку новоутворення у щурів та за введення цитостатиків, які здатні до регуляції інтенсивності оксидативного стресу.

## **1.2 Кластерні сполуки Ренію з алкільними лігандами як антиоксиданти**

Реній (Re) – це перехідний метал (атомний номер 75, атомна маса 186.21 г/мол), 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. Реній має також унікальні координаційні властивості, а завдяки своїй нетоксичності сполуки Ренію є перспективними для медичної практики.

У роботах нашої наукової групи під керівництвом проф. Штеменко Н. І. було показано протипухлинні властивості кластерних сполук Ренію з органічними лігандами, особливо ефективні у складі протипухлинної системи Реній-Платина [51, 52, 99, 114, 116, 156, 159, 163, 183]. Почверний ренієвий зв'язок утворений одним  $\sigma$ -, двома  $\pi$ - і одним  $\delta$ - зв'язками. Саме  $\delta$ - зв'язок, що може бути утворений тільки перекриванням у певному напрямку  $d$  - орбіталей електронів перехідних металів, обумовлює значні антиоксидантні, анти- гемолітичні, гепато- і нефро-протекторні властивості сполук Ренію з органічними лігандами. Як синтез більшості сполук Ренію [5, 45, 83, 84], так і дослідження біохімічних властивостей сполук Ренію з почверним зв'язком є пріоритетом України.

Сполуки Ренію з почверним зв'язком, таким чином, відносяться до нового класу антиоксидантів –  $\delta$ -антиоксидантів, на відміну від загальновідомих  $\pi$ -антиоксидантів. Біологічні ефекти цих сполук, на нашу думку, вивчено недостатньо. У сучасній антираковій терапії відбувається переосмислення ролі антиоксидантів. Зокрема, вважається, що їх функція

пов'язана не тільки зі здатністю видаляти шкідливі вільні радикали, але і модулювати клітинні сигнальні шляхи [126]. Модуляція клітинних сигнальних шляхів антиоксидантами може вплинути позитивно на виникнення і ріст новоутворення. Це може здійснюватися в такий спосіб: 1. збереження нормальної регуляції клітинного циклу; 2. інгібування проліферації та індукції апоптоза; 3. пригнічення пухлинної інвазії та ангіогенезу; 4. пригнічення запалення, і інші ефекти. Регуляція активності оксидативного стресу вважається одним з найбільш перспективних стратегій у боротьбі з раком [118, 130, 170, 175].

Відомо, що концентрація ТБК-активних продуктів плазми крові є важливим біохімічним маркером, який віддзеркалює інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) всього організму – процесу, який є наслідком окиснення мембранних ліпідів реактивними кисневими сполуками, надлишкове утворення яких спостерігається при багатьох патологіях [95, 136]. Введення антиоксидантів значно знижує інтенсивність оксидативного стресу організму [150].

Деякі антиоксиданти та їхня ефективність у порівнянні зі сполуками Ренію тетракарбоксилатного типу наведені в таблиці 1.1.

*Таблиця 1.1*

**Ефективність антиоксидантів щодо гасіння інтенсивності ПОЛ  
крові**

| № | Антиоксидант | Патологія<br>або експериментальна<br>модель | Максимальна<br>ефективність<br>Е, % | Посилання |
|---|--------------|---------------------------------------------|-------------------------------------|-----------|
| 1 | 2            | 3                                           | 4                                   | 5         |
| 1 | Актовегін    | Тяжка черепно-мозкова<br>травма людини      | 136,5                               | [46]      |
| 2 | Ізораментин  | Безхолестеринова дієта на<br>щурах          | 87,16                               | [97]      |

Продовження таблиці 1.1

| 1  | 2                                                   | 3                                                  | 4      | 5                      |
|----|-----------------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------|------------------------|
| 3  | Раментин                                            | Безхолестеринова дієта на щурах                    | 88,96  | [75]                   |
| 4  | Кверцетин                                           | Безхолестеринова дієта на щурах                    | 91,94  | [75]                   |
| 5  | Вітамін Є                                           | Хронічна ниркова недостатність                     | 140,10 | [57]                   |
| 6  | Вітамін Є                                           | Гострий вплив кадмію на щурах                      | 103,97 | [139]                  |
| 11 | Екстракт чорниці                                    | Цисплатин-індукований окислювальний стрес на щурах | 89,25  | [140]                  |
| 12 | Полідатин                                           | Цисплатин індукований окислювальний стрес на щурах | 118,79 | [ 98]                  |
| 13 | Кластерні сполуки Ренію за різних способів введення | Карцинома Герена на щурах                          | 404,29 | [13, 14,17, 18, 27,33] |

Якщо відомі антиоксиданти призводять до зниження інтенсивності ПОЛ крові за різних патологій максимально у 1,5 -2 рази, то ефективність гальмування процесу ПОЛ сполуками Ренію тетракарбоксилатного типу набагато перевищує ефективність відомих антиоксидантів і досягає чотирьохкратної величини. Механізм дії відомих антиоксидантів здебільшого полягає у безпосередній взаємодії з радикалами за допомогою кон'югованих  $\pi$ -зв'язків (наприклад, вітаміни А, С, Е) з утворенням стабільної частки, що гальмує ланцюгові радикальні реакції. Почверний зв'язок, який знаходиться

у кластерному диренієвому фрагменті, легко приєднує електрони радикалів на низькоенергетичну  $\delta$  (дельта)- розпушуючу молекулярну орбіталь. Відомі металоорганічні сполуки, що також мають антиоксидантні властивості, проте, ці властивості реалізуються за рахунок  $\pi$ -ненасичених лігандів, наприклад, поліфенольної, флавоноїдної природи [106]. Сполуки Ренію з почверним зв'язком представляють таким чином новий клас високоефективних  $\delta$  – (дельта) – антиоксидантів, що поряд з їхньою нетоксичністю робить їх перспективними лікарськими препаратами [26, 34, 35].

В наших попередніх роботах було розроблено нову систему Реній-Платина (детальніше опис системи дивись в Розділі 2. Матеріали і методи), яка включає введення щурам-пухлиноносіям одноразово цисплатину та кластерної сполуки Ренію за схемою антиоксидантної терапії та показана її протипухлинна активність [22, 31, 37, 40, 41, 167]. Введення протипухлинної системи Реній-Платина призводить до зникнення ракових пухлин у більшості щурів [32, 37, 39, 43].

Також введення системи Реній-Платина щурам-пухлиноносіям призводить до значного зниження кількості кінцевих продуктів перекисного окиснення ліпідів (у 4,3 разів), нормалізації активності супероксиддисмутази крові [13, 20, 158].

Показано, що сполуки ряду *цис*-ди- $\mu$ -карбоксилатів диренію(III) здатні пригнічувати розвиток пухлини, покращувати морфологічні та біохімічні характеристики еритроцитів і впливати на активність ензимів антиоксидантного захисту, параметри оксидативного стресу крові у моделі канцерогенезу щурів при їхньому окремому введенні та разом з цисплатином

Також показано, що ди- $\mu$ -карбоксилати диренію *транс* - і *цис* - ряду мають протипухлинну активність при окремому введенні щурам-пухлиноносіям (до 30,1 %) та ефективно знижують ріст пухлини (на 78-100 %) у складі системи Реній-Платина. Встановлена залежність між довжиною радикалу та ефективністю сполук як протипухлинних агентів.

Було побудовано ряд залежності впливу *цис*-ди- $\mu$ -карбоксилатів диренію(III) на розмір остаточної пухлини ( у % до контролю) від довжини алкільного радикалу у молекулі ренієвого кластеру: ацетатний (21,8 %)< пропіонатний (2,4 %)< ізобутиратний (0,5 %)< півалатний (0,09%) [ 13, 14].

Також було показано, що ди- $\mu$ -карбоксилати диренію(III) *цис*-конфігурації з алкільними лігандами здатні до гальмування процесу перекисного окиснення ліпідів (на 81%), що порушуються за розвитку пухлини і введенні цисплатину, незалежно від довжини алкільного радикалу за різних способах введення [19]. Була встановлена залежність між структурою ди- $\mu$ -карбоксилатів диренію(III) та їхньою здатністю до активації еритроцитарної супероксиддисмутази у моделі пухлинного росту. Так, введення *цис*-ди- $\mu$ -карбоксилатів збільшувало активність супероксиддисмутази із збільшенням довжини алкільного радикалу: ацетатний (на 127,8 %) < пропіонатний (на 138,4 %) < ізобутиратний (на 147,4 %) < півалатний (на 171,7 %), а введення *транс*-ди- $\mu$ -карбоксилатів змінювало активність супероксиддисмутази (на 30-70 %), у порівнянні з даними групи щурів-пухлиноносіїв [13, 14, 15, 115]. У вказаних роботах також було відмічено, що за введення *цис*-дикарбоксилатів диренію з різною довжиною алкільного ліганду активність каталази в еритроцитах щурів-пухлиноносіїв практично не змінювалася.

Майстерність колег хіміків Українського державного хіміко-технологічного університету дозволила отримати нові сполуки ряду *цис*- і *транс*-дикарбоксилаті диренію(III) з заміщеними адамантильними, індольними і ферулатними лігандами (див. Розділ 2. Матеріали та методи), які ми умовно називаємо «біологічно активними лігандами». Таку назву ми вважаємо доцільною, оскільки вищеназвані ліганди входять до складу багатьох природних і синтетичних біологічно активних речовин [55, 125]. Така назва також доцільна для демонстрації відмінностей біологічної активності з кластерними сполуками Ренію з «біологічно активними

лігандами», яким присвячено цю роботу, від кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами, що вивчалися раніше.

Явище хеміорезистентності є одним з центральних викликів щодо хіміотерапії [49, 65, 111, 178, 187]. Резистентність пухлини до антиканцерогенних ліків має складний механізм, який включає в себе наявність в популяції клітин пухлини ствольових ракових клітин (спадково, первинно резистентних, ініціюючих переродження звичайних клітин в ракові) і інших клітин, які набули резистентність за дії хімічних препаратів мутацій (вторинна, набута резистентність). Як первинна, так і вторинна резистентність недостатньо вивчені, проте, роль вільних радикалів і перебіг оксидативного стресу в ракових клітинах здійснюють певний розвиток явища резистентності [178]. Резистентна до цисплатину карцинома Герена є зручною моделлю для вивчення біохімічних особливостей організму за розвитку хеморезистентного новоутворення [111].

У наших роботах показано, що за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена відбувається посилення процесів ПОЛ у крові, але зростання інтенсивності ПОЛ відбувається повільніше за розвитку резистентного штаму, ніж звичайного [3, 4]. Визначено різні біохімічні характеристики еритроцитів звичайної та резистентної карциноми Герена, які полягають у різному рівні інтенсивності ПОЛ всередині клітини та його різній регуляції введенням цитостатика цисплатину[23]. За розвитку резистентної карциноми Герена формується більш стійка популяція еритроцитів, ніж при розвитку карциноми Герена. Проте, ферментативна система захисту еритроцитів у цих експериментах не вивчалася.

Отже, наступним етапом нашої роботи було дослідження антиоксидантних властивостей сполук Ренію з адамантильними, індольними та ферулатними лігандами, та порівняння цих властивостей з такими ж для кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами. Також, у зв'язку з вищезазначеною важливістю дослідження біохімічних особливостей явища резистентності, нашим завданням стало дослідження впливу сполук Ренію

на систему АОС еритроцитів в моделі пухлинного росту за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена.

### **1.3 Навантажені ліпосоми та наночастки як ефективні антиканцерогенні препарати**

Розмір наночастинок, які використовуються в медичній практиці, коливається в межах 5-200 нанометрів [188]. Цей розмір значно перевищує розмір органічних молекул, але нижня межа діапазону наближається до розміру багатьох білків і біологічних макромолекул [101, 102]. Нанотехнології в цілому і наночастинки, зокрема, зробили революцію в розробці нових лікарських засобів [128].

Підвищення селективності націлювання і краща доставка лікарських засобів є одним з завдань, яке можуть вирішити нанотехнології [141]. Оскільки наночастки в кілька разів менші, ніж ракові клітини, вони можуть бути легко транспортовані через кровоносні судини і взаємодіяти з мішенню [62, 64, 120]. Крім того, нано-носії є ідеальними об'єктами для доставки мало-водорозчинних агентів в бажане місце [117]. Для протипухлинних препаратів дуже важливо потрапити саме в місце розвитку пухлини з мінімальним впливом на нормальні тканини [70]. У методах лікування раку наночастки можуть додатково посилювати проникливість і утримування в пухлині для кращого накопичення препарату в пухлинних ділянках. Це дозволило наночасткам стати перспективним кандидатом на заміну традиційної хіміотерапії, де внутрішньовенне введення токсичних речовин становить серйозну загрозу для здорових тканин [167].

Одним з яскравих прикладів переваги інкапсульованої у ліпідний матрикс речовини у порівнянні з розчином є отримання і випробування ліпосомального цисплатину. Цисплатин - хіміотерапевтичний засіб, який широко використовується для лікування різних пухлин в організмі людини. Проте, його використання має деякі обмеження, такі як розвиток

резистентності та побічні ефекти, головним чином, нейро-, гепато-, ото- та нефро-токсичність [50]. Існує також хімічна несумісність з іншими лікарськими засобами [131]. Поява резистентності під час терапії є важливим обмеженням для використання цисплатину, що призводить до неефективності лікування [165, 184.]. Застосування більш високих доз цисплатину не бажано через токсичність препарату, яка проявляється в ушкодженні нирок і кісткового мозку, виникненні блювоти, периферичної нейропатії, глухоти, судом і сліпоти [67, 73].

Однією з ефективних стратегій для зниження системної токсичності цисплатину стала розробка ліпосомних препаратів, а саме, ліпоплатину [60, 173, 177]. На відміну від цисплатину, ліпоплатин краще накопичується у пухлинній тканині, швидше досягає мішені і є більш ефективним щодо гальмування злоякісного росту [149]. Також, інкапсуляція цисплатину у ліпідну частку призводила до зменшення його токсичності. Існують дані про те, що ліпоплатин є більш активним у пригніченні резистентної пухлини, ніж цисплатин [10]

Кластерні сполуки Ренію здебільшого є малорозчинними у воді і гідролізують у водних розчинах з різною швидкістю залежно від їхньої будови. Тому, усі експериментальні роботи нашої наукової групи щодо визначення біологічної активності, цитовані вище, були проведенні з ліпосомними формами кластерних сполук Ренію, властивості та методи виготовлення яких представлено у роботах [161].

Чисельні роботи у світовій літературі присвячено комбінаційній терапії за участі цисплатину та платинідів [69, 73, 77, 105, 113, 151]. Мета використання двох, або більше ліків полягає, по-перше, у залученні речовин з різним механізмом антиканцерогенної дії – таким чином досягається адитивний або синергічний ефект препаратів; по-друге, знижується токсичний ефект платинідів щодо здорових клітин організму – це так звана стратегія «модуляції механізму дії платинідів». Одним із вдалих, на нашу думку, прикладом застосування комбінаційної терапії і модуляції механізму

дії цисплатину є протипухлинна система Re-Pt, властивості якої описано у главі 1.2. Введення системи проводилося декількома способами: введення окремо сполуки Re у фізіологічному розчині, у формі звичайних ліпосом, твердих наночасток; введення системи Re-Pt, де цисплатин вводили одноразово у водному розчині, а сполука Ренію вводилася десятикратно у ліпосомній формі, або у формі наночасток з кінцевим молярним співвідношенням сполуки Ренію і Платини 4:1; введення системи Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом та наночасток, де обидва цитостатики знаходилися всередині ліпідної нанокapsули (див. Розділ 2. Матеріали та методи). Відносно нещодавно було синтезовано наноліпосоми і тверді наночастки які містять всередині як кластерні сполуки Ренію, так і цисплатин у певному співвідношенні (Рис. 1.2) [116].

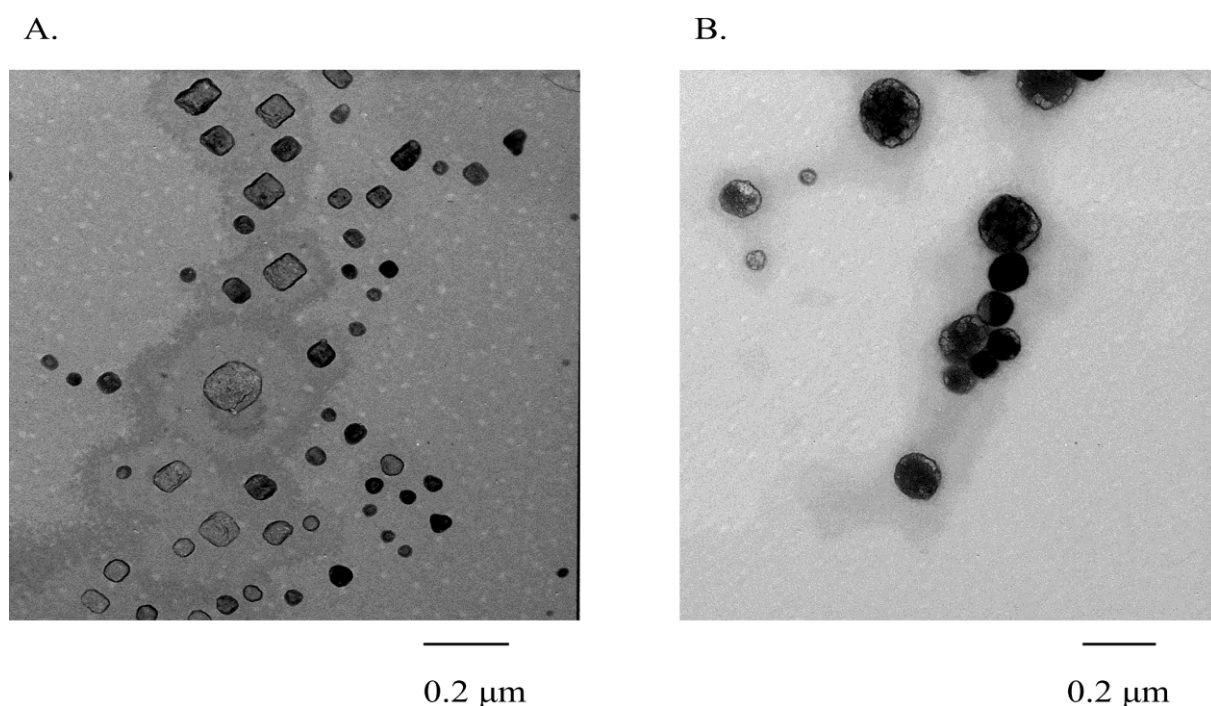


Рис. 1.2 Ліпосоми навантажені кластерними сполуками Ренію (А) та кластерними сполуками Ренію і цисплатинном

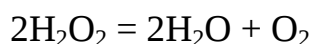
Такі ліпосоми та наночастки мають назву «нанобіни». Вони відрізняються від ліпосом, навантажених тільки однією речовиною розміром, стабільністю, швидкістю звільнення препаратів з ліпідної оболонки і т.і. Але,

головне, що такі нанобіни є більш ефективними щодо гальмування пухлини і не мають токсичних ефектів, притаманих цисплатину.

Отже, оскільки наноліпосоми і наночастки, навантажені двома цитостатиками, а саме кластерними сполуками Ренію і цисплатину, були синтезовані нещодавно, дослідження їхнього впливу на оксидативний стрес еритроцитів щурів-пухлиноносіїв проводиться вперше і є актуальною і своєчасною задачею.

#### 1.4 Будова каталази та її роль як антиоксиданта

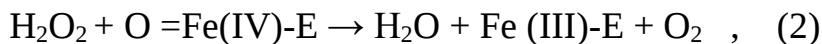
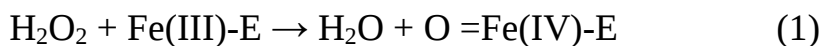
Каталаза (КАТ) (гідроген-пероксидаза: гідроген-пероксид-оксидоредуктаза ЄС 1.11.1.6) - фермент, виявлений в клітинах практично всіх аеробних організмів. Каталізує реакцію знешкодження пероксиду водню [103], що утворюється в результаті реакції дисмутації супероксидного радикала. Цей гемо-вмістний білок є найбільш ефективним ферментом і може розкласти мільйони молекул гідроген пероксиду ( $\sim 10^7$  М / сек) щосекунди [190] в молекулярний кисень і воду згідно реакції:



Навіть в анаеробних умовах КАТ вважається необхідною для деяких паразитичних мікроорганізмів і використовується для захисту від гідроген пероксиду, який виробляється організмом-господарем.

Молекула КАТ, виділена з печінки бика, складається з чотирьох ідентичних субодиниць, кожна з яких містить в якості кофактора залізопорфіриновий комплекс і від 2 до 4 молекул НАДФН [71; 182]. Молекулярна маса КАТ складає 225-270 кДа. Дуже жорстка і стабільна тетрамерна структура КАТ робить її більш стійкою до рН, термічної денатурації і протеолізу, ніж більшість інших ферментів.

Механізм каталізу КАТ вивчено не повністю, проте вважають, що він має спільні риси з механізмом пероксидази с [76]. Каталітичний процес відбувається у дві стадії:



де

Fe(III)-E, це активний центр, в якому гем приєднаний до апоферменту E.

Гідроген пероксид, перш ніж досягти загибленого гему, просторово загальмований і повинен спочатку реагувати з His<sup>74</sup> і Asn<sup>147</sup>. Перебіг протону з одного атому Оксигену на інший через His<sup>74</sup> подовжує і поляризує O-O зв'язок, який потім гетеролітично розривається, оскільки один оксиген з молекули гідроген пероксиду координується до ферум-центру гема. В процесі цієї координації звільняється молекула води і утворюється O=Fe(IV)-E та радикал гема. Радикал швидко деградує через ще один електронний перебіг, позбавляючись електрону та залишаючи незмінними ароматичні кільця гема. Протягом другої стадії, в подібній двох-електрон-трансферній реакції, O=Fe(IV) реагує з другою молекулою гідроген пероксиду з утворенням вихідного Fe(III)-E, другої молекули води і однієї молекули Оксигену. Доведено, що ефективність КАТ залежить від взаємодії проміжних продуктів реакції з His<sup>74</sup> [76]. Цей механізм було підтверджено експериментально, оскільки модифікація His<sup>74</sup> 3-аміно-1,2,4- триазолм призводила до повної інактивації ферменту.

Важливим є також залишок Tyr<sup>357</sup>, який приймає участь у окисненні Fe(III) до Fe(IV) шляхом виведення електрону з кільця гема.

Для нашої роботи важливими даними є дослідження впливу рН на спектральні характеристики КАТ (Рис. 1.3).

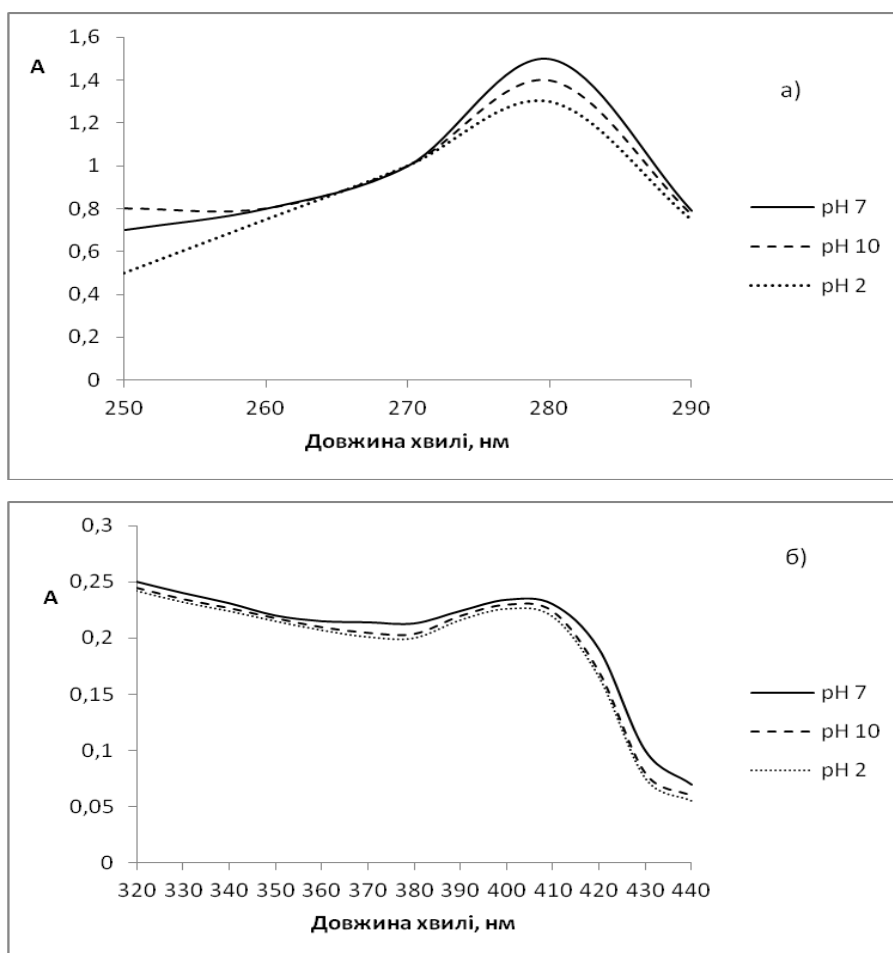


Рис. 1.3 Електронний спектр поглинання (ЕСП) КАТ з печінки бика в області 250-290 нм (а) і 340-440 нм (б) за різних рН розчину [54]

Уф-область 260-280 нм (Рис. 1.3а) відповідає поглинанню ароматичних амінокислот в молекулі білка. Область 320-440 нм - полоса Core (Soret band) відповідає поглинанню залізо-порферинової простетичної групи (гема) (Рис. 1.3б). Дані, представлені на рис.1.3 свідчать, що під дією зміни рН розчину відбувається денатурація білкової глобули (а) і порушення структури гема (б).

Гідроген пероксид є однією з найбільш розповсюджених активних форм кисню в біосфері [91]. Він виникає або в навколишньому середовищі клітин, або як побічний продукт аеробного метаболізму в дихальному електрон-транспортному ланцюзі, як зазначається у розділі 1.1. Надмірна кількість гідроген пероксиду шкідлива майже для всіх клітинних компонентів [155]. Швидке і ефективне видалення гідроген пероксиду має

істотне значення для всіх аеробних організмів. Отже, КАТ відноситься до одного з найважливіших антиоксидантних факторів.

Антиоксидантна роль КАТ в еритроциті полягає здебільшого в тому, що цей фермент захищає гемоглобін шляхом видалення більше ніж половини гідроген пероксиду, решта гідроген пероксиду розкладається глутатіонпероксидазою [48, 78, 87]. Проте, це питання є дискусійним. Наприклад, є думка про те, що в еритроциті основна функція щодо розкладу гідроген пероксиду належить каталазі, а глутатіонпероксидаза здебільшого реагує з більш складними органічними пероксидами. Відомо також, що за низьких концентрацій гідроген пероксиду каталаза виявляє активність оксидази, що виходить за межі нашого огляду.

На нашу думку, цікаві експерименти, що виявили антиоксидантну роль еритроцитарної КАТ, проведені на еритроцитах звичайних і нокдаун по каталазі мишах [48]. Експеримент був проведений на лейкомічних клітинах L1210, які гинули за високої концентрації гідроген пероксиду. Додавання гемолізату еритроцитів звичайних мишей повністю відновлювало життєздатність клітин, а додавання гемолізату еритроцитів без КАТ не призводило до позитивного ефекту. Висновок авторів: КАТ еритроцитів є ферментом, призначеним для антиоксидантного захисту не тільки еритроцитів, а інших соматичних клітин всього організму, адже за розкладу еритроцитів КАТ вивільняється у кров'яне русло і досягає інших органів [48]. Цю гіпотезу не було підтверджено іншими експериментами, але наявність значної концентрації КАТ в еритроциті (друга за величиною після печінки) не знаходить пояснення, що підтримує цю гіпотезу.

Визначення антиоксидантного, протизапального, антиканцерогенного впливу супероксиддисмутази та каталази призвело до інтенсивного пошуку їхніх низькомолекулярних біоміметиків на основі металоорганічних сполук [133]. Саме металоорганічні сполуки є базою для створення таких міметиків, оскільки СОД і КАТ є металопротейдами. Такі міметики є більш стабільними та біологічно доступними, це дозволяє розширити їх терапевтичну

користь [154]. Якщо ж одна і та ж сама металоорганічна сполука буде мати подвійну СОД- та КАТ-подібну активність, одочасно можуть бути усунуті супероксиданіон та гідроген пероксид [93], тобто, досягнуті максимальні антиоксидантні властивості.

Було показано, що введення нативної, або полімер-іммобілізованої супероксиддисмутази, призводило до лікування ряду патологій, пов'язаних з радикальними вибухами [96, 119, 142, 180]. Це стало основою інтенсивного пошуку СОД-міметиків. А саме: було показано, що комплекси Купрума та Ферума мають СОД-активність [134]; сполуки Мангану з різними органічними лігандами [56] захищали бактерії від індукованої паракватом токсичності [145], мишей проти ендотоксину шоку [79], кролів від індукованої катаракти [58] та були активними проти ексітотоксин-індукованої патології мозку *in vivo* [63]. Кон'югат супероксиддисмутази і каталази був дуже активний у інгібуванні реакції Фентона і в моделі ішемії [124]. Синтетичний СОД/ КАТ міметик на основі Мангану EUK-8 був випробований у моделі інфаркту мозку і показав високу ефективність [53, 154] Виявилось, що наночастки оксиду Церію (наноцерій) мали як СОД, так і КАТ активність [143]. Ліпосоми, навантажені СОД/КАТ біоміметиком, знімали запалення легень [93]. У огляді Мусколі [133] обговорюється селективність біоміметиків антиоксидантних ферментів. Пошук таких біоміметиків інтенсивно проводиться групою професора Гарсія-Еспанія [66; 85] на основі сполук Мангану.

СОД-активність була показано для кластерних сполук Ренію(III) у роботах Леус [13, 156]. Проте, каталазна активність цих сполук не досліджувалась. Як витікає з літературного огляду, наведеного вище, саме біоміметики, які мають СОД і КАТ активність, можуть бути найбільш ефективними антиоксидантами.

Отже, метою нашої роботи було визначити, чи мають кластерні сполуки Ренію(III) каталазну активність. Також, задачею нашого

дослідження було дослідити взаємодію кластерних сполук Ренію(III) з нативною каталазою.

### **Висновки до розділу 1**

У цьому розділі зроблено основний огляд літератури. Описані загальні принципи регуляції оксидативного стресу в еритроцитах. Наведено характеристику перехідного металу – Ренію. Розглянуто сучасні біохімічні характеристики Re-Pt системи, її протипухлинні, антигемолітичні та антиоксидантні властивості; вплив різноманітних чинників на інтенсивність оксидативного стресу та активність антиоксидантних ферментів при розвитку новоутворення. Викладено сучасний погляд на структуру, фізіологічну роль каталази і та її спектральні властивості.

Матеріали цього розділу наведено в таких публікаціях [13, 17, 18, 19, 22, 23, 26, 31, 32, 33, 34, 35, 36, , 37, 39, 40, 41, 43, 156, 167].

## РОЗДІЛ 2

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

## 2.1 Матеріали

У роботі досліджувалися кластерні сполуки Ренію(III) з органічними лігандами трьох структурних типів (Рис. 2.1) та з різними біологічно активними лігандами.

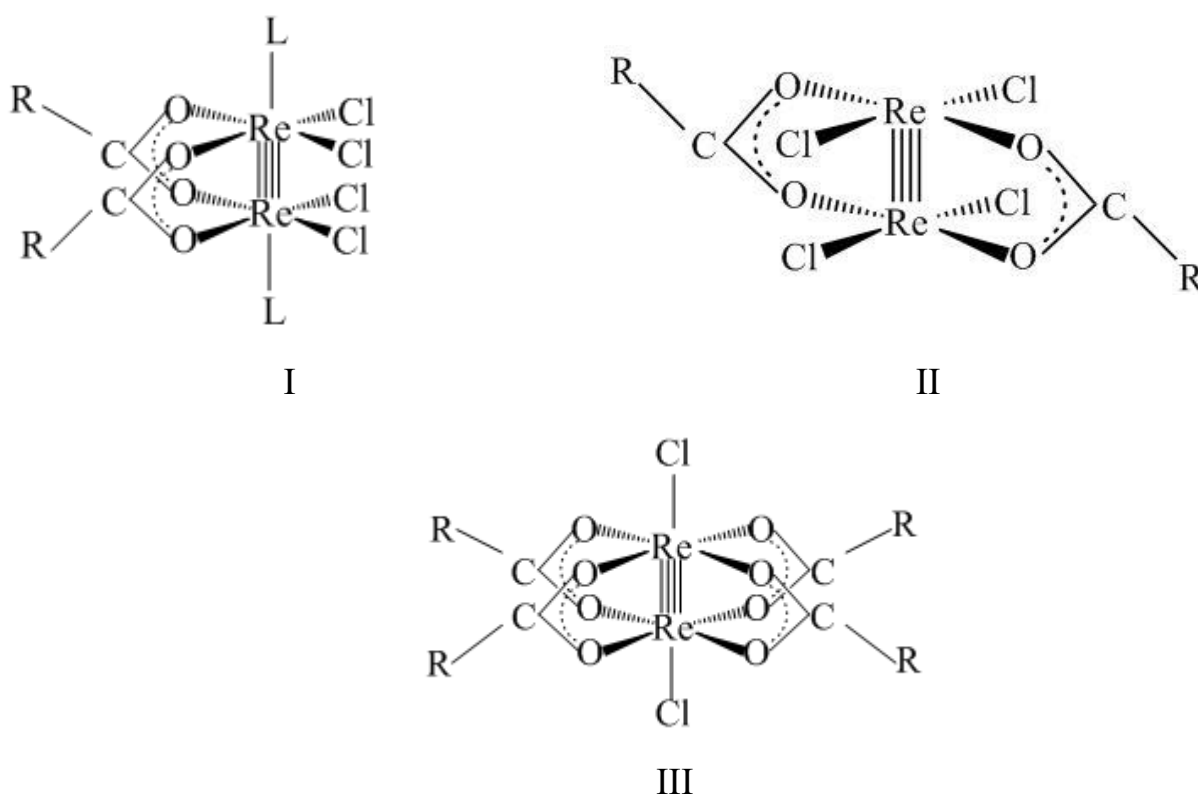


Рис. 2.1 Структурні типи досліджуваних комплексних сполук Ренію з органічними лігандами: I – *цис*-ди- $\mu$ -карбоксилати диренію(III), II – *транс*-ди- $\mu$ -карбоксилати диренію(III), III – тетра- $\mu$ -карбоксилати диренію(III)

Цисплатин та препарати кластерних сполук ренію було синтезовано на кафедрі неорганічної хімії Українського державного хіміко-технологічного

університету (м. Дніпро) у вигляді ліпосом, наноліпосом та наночасток [158, 161].

У роботі досліджували наступні кластерні сполуки Ренію:

- $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$  — дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ );
- $\text{cis-Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$  біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- $\mu$ -ізобутиратодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ );
- $\text{cis-Re}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$  — біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- $\mu$ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{cis-Adam}}$ );
- $\text{trans-Re}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO})_2\text{Cl}_4$  — транс-тетрахлороди- $\mu$ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{trans-Adam}}$ );
- $\text{cis-Re}_2(\text{Fer})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}$ ,  $\text{Fer}$  —  $\text{HO-C}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$  — ферулова кислота біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- $\mu$ -ферулатодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{Ferul}}$ );
- $\text{cis-Re}_2(\text{IOK})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN}$ ,  $\text{IOK}$  —  $(\text{C}_8\text{H}_6\text{N})\text{CH}_2\text{COOH}$  — індолилоцтова кислота біс-ацетонітрил-цис-тетрахлороди- $\mu$ -індолилацетатодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{Indol}}$ );
- $\text{cis-[Re}_2(\text{NH}_3\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{DMCO}]\text{Cl}_2$  — біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- $\mu$ -аміноадамантилкарбоксилатодиреній(III) хлорид ( $\text{Re}_{\text{NH}_2\text{Ad}}$ );
- $\text{Re}_2(\text{CH}_3\text{CONHC}_{10}\text{H}_{14}\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN}$  - біс-ацетонітрил-тетрахлороди- $\mu$ -ацетіламіноадамантилкарбоксилатодиреній(III) ( $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ ).

Ліпосоми готували за [116].

Об'єктами досліджень були еритроцити та плазма крові щурів-пухлиноносіїв віком 3х місяців та вагою 100-150 г. В якості антикоагулянту було обрано гепарин. Плазму отримували шляхом центрифугування цільної крові при 2000 об/хв протягом 5 хв. Після цього плазму відбирали та використовували для дослідів.

## 2.2 Модель пухлинного росту

Експеримент по вивченню протипухлинної та антиоксидантної активності сполук Ренію проводили на щурах лінії Wistar вагою 100-150 г. у стандартних умовах віварію. Маніпуляції з тваринами проводилися відповідно до правил „Європейської конвенції захисту хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей”. Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації здоровим щурам 20 %-ї суспензії клітин карциноми Герена (T8) та резистентної до цисплатину карциноми Герена (T8p) у фізіологічному розчині [29]. Донорами ракових клітин були пухлиноносії, придбані в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України безпосередньо перед трансплантацією.

Тварин було поділено на групи (по 8-12 щурів у кожній): інтактні тварини (контроль); щури, яким трансплантували карциному Герена (T8) або резистентну до цисплатину карциному Герена (T8p); щури-пухлиноносії, яким вводили водний розчин цисплатину за схемою [162] (cisPt).

Сполуки Ренію і Платини вводили різними способами:

1 спосіб – введення окремо сполуки Ренію. Внутрішньочеревне введення Ренію у фізіологічному розчині (sln), у формі звичайних ліпосом (lip) розміром 5-10 мкм, у формі наноліпосом (nl) і твердих наночасток (np) розміром 10-100 нм проводили десятикратно у дозі 7 мкмоль/кг, починаючи з 3 доби після трансплантації ракових клітин з інтервалом в 1 добу протягом 21 доби (групи T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] sln, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] lip, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] nl, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] np відповідно, та групи T8 + [Re<sub>trans-Ad</sub>]nl, T8 + [Re<sub>cis-Ad</sub>] nl, T8 + [Re<sub>NH2Ad</sub>] nl, T8 + [Re<sub>AcAd</sub>] nl, T8 + [Re<sub>Ferul</sub>] nl, T8 + [Re<sub>Indol</sub>] nl). Проводилося також десятикратне пероральне (per os) введення такої ж дози Re<sub>tetraisobut</sub> у формі твердих наночасток розміром 10-100 нм, починаючи з 3 доби після трансплантації пухлини із розрахунку 7 мкмоль/кг Re<sub>tetraisobut</sub>, група T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] np (per os).

2 спосіб – введення компонентів системи Re-Pt, де цисплатин вводили одноразово у водному розчині, а сполука Ренію вводилася десятикратно у ліпосомній формі, або у формі наночасток з кінцевим молярним співвідношенням сполуки Ренію і Платини 4:1. Одноразове внутрішньочеревне введення розчину цисплатину (cPt) у дозі 1,75 мкмоль/кг на 9 добу проводилося після трансплантації пухлини, а внутрішньочеревне введення Re проводилося у тих самих дозах і способах, описаних вище у способі 1, групи T8 + cPt + [Re<sub>tetraisobut</sub>] lip, T8 + cPt + [Re<sub>tetraisobut</sub>] nl, T8 + cPt + [Re<sub>tetraisobut</sub>] np, T8 + cPt + [Re<sub>tetraisobut</sub>] np (per os), T8 + cPt + [Re<sub>trans-Ad</sub>] nl, cPt + [Re<sub>cis-Ad</sub>] nl, T8 + cPt + [Re<sub>NH2Ad</sub>] nl, T8 + cPt + [Re<sub>AcAd</sub>] nl, T8 + cPt + [Re<sub>Ferul</sub>] nl, T8 + cPt + [Re<sub>Indol</sub>] nl.

3 спосіб – комбіноване застосування системи Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом та наночасток, де обидва цитостатики знаходилися всередині ліпідної нанокапсули. Внутрішньочеревинне введення наноліпосом і наночасток розміром 100 – 150 нм навантажених Re та cPt у молярному співвідношенні 4:1 та 4:2 проводили починаючи з 3 доби після трансплантації пухлини із розрахунку 7 мкмоль/кг ренієвої сполуки і відповідної кількості цисплатину, групи T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:1)] nl, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:1)] np, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:2)] nl, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:1)] np (per os), T8 + [Re<sub>trans-Ad</sub> + cPt] nl, T8 + [Re<sub>cis-Ad</sub> + cPt] nl, T8 + [Re<sub>NH2Ad</sub> + cPt] nl, T8 + [Re<sub>AcAd</sub> + cPt] nl, T8 + [Re<sub>Ferul</sub> + cPt] nl, T8 + [Re<sub>Indol</sub> + cPt] nl.

На 21 день після трансплантації пухлини проводили декапітацію щурів під етерним наркозом [3, 13, 156, 167].

Терапевтичний ефект введених сполук визначали двома способами:

1. зважували видалену пухлину;
2. визначали об'єм пухлини на протязі експерименту.

Проводили вимірювання розмірів пухлини у трьох взаємно перпендикулярних площинах та визначали середній об'єм (V) за формулою Шрека [23, 29]:

$$V = \pi/6 \cdot (a \cdot b \cdot c),$$

де

a – довжина;

b – ширина;

c – висота.

### 2.3 Визначення активності каталази

Принцип метода [8, 30, 17, 31] складається у тому, що каталаза руйнує субстрат  $H_2O_2$ , а частину перекису водню, яка залишилась незруйнованою, вимірюють за допомогою молібдата натрію. Як відомо, для молібдена характерно утворення перекисних сполук зі складом  $Na_2MoO_6$ , які мають жовтий колір, при взаємодії з перекисом водню. У водному розчині вони дуже швидко розпадаються з відщепленням кисню і, таким чином, швидко втрачають колір. Їх визначення має відповідні труднощі, оскільки “життя” цих сполук вимірюється секундами. Інтенсивність забарвлення утворившихся перекисних сполук молібдена залежить від кількості перекису водню у розчині, т.ч. від активності каталази в пробі.

Реактиви:

1. 0,3 % водний розчин перекису водню ( 1 мл концентрованого розчину перекису доводять дистильованою водою до 100 мл);
2. 4 % водний розчин молібдата натрію.

Методика наведена у Табл. 2.1.

Таблиця 2.1

#### Схема визначення каталази в крові

| Реактиви             | Холоста проба | Досліджуєма проба |
|----------------------|---------------|-------------------|
| 1                    | 2             | 3                 |
| Розчин $H_2O_2$ , мл | 2,000         | 2,000             |

Продовження таблиці 2.1

| 1                                                                                          | 2     | 3     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------|-------|-------|
| Гемолізат крові (стандартний розчин каталази), мл. Інкують 10 хв при кімнатній температурі | ----- | 0,010 |
| Розчин молібдата, мл                                                                       | 1,000 | 1,000 |

Кров гемолізували дистиллятом у співвідношені 1:50 ( 0,1 мл крові та 4,9 мл води).

Розчин молібдата додають до кожної проби і відразу ж після перемішування реакційної суміші вимірюють екстинкцію при 410 нм супроти дистилляту. Чим більше у пробі каталази, тим менше перекису водню залишається незруйнованим та тим менше утворюється перекису молібдата. Результат оцінюють за долею руйнації перекису водню каталазою або мірою блокування отримання кінцевих продуктів перекисів молібдата і виражають у відсотках. Розрахунок проводять за формулою:

$$E = (A_{\text{хол}} - A_{\text{досл}}) \cdot V \cdot t \cdot K,$$

де

$E$  – активність каталази (у мкат/л);

$A_{\text{хол}}$  и  $A_{\text{досл}}$  – екстинкція відповідно холостої та досліджуємої проб;

$V$  – об'єм внесеної проби 0,1 мл;

$t$  – час інкубації 600 хв.;

$K$  – коефіцієнт мілімолярної екстинкції перекису водню, що дорівнює  $22,2 \cdot 10^3 \text{ мМ}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

## 2.4 Визначення ТБК-активних продуктів в плазмі крові

Дослідження інтенсивності ПОЛ ведуть, визначаючи вміст ТБК-активних продуктів, одним з яких є малоновий діальдегід - за допомогою ТБК. ТБК-активні продукти та тіобарбітурова кислота при високій температурі і

кислому значенні рН утворюють забарвлений комплекс. Максимум поглинання комплексу припадає на 532 нм. Визначення ТБК-активних продуктів проводили за методикою Л. І. Андрєєвої [1, 115].

Реактиви:

1. 1 % -вий розчин ортофосфорної
2. 0,6 % -ний водний розчин тіобарбітурової кислоти. Розчиняють при невеликому нагріванні.
3. 0,28 % -вий розчин  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ . 28 мг  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  розчиняють в 10 мл дистильованої води.

Рівень ТБК-активних продуктів визначали у плазмі крові. Робота по визначенню ТБК-активних продуктів проводилася за протоколом, що подано у Таблиці 2.2.

*Таблиця 2.2*

### **Протокол процедури визначення ТБК-активних продуктів**

| Реагенти                                                 | Контроль | Експериментальний зразок |
|----------------------------------------------------------|----------|--------------------------|
| плазма або 10 % гомогенат клітин, мл                     | _____    | 0,10                     |
| 1 ммоль/л $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , мл | 0,10     | 0,10                     |
| 1 % ортофосфорна кислота, мл                             | 2,00     | 2,00                     |
| 0,6 % тіобарбітурова кислота, мл                         | 1,00     | 1,00                     |
| інкубація 60 хв. при 100 °С з наступним охолодженням     |          |                          |

Проби витримували на киплячій водяній бані на протязі 1 години. Після охолодження проби центрифугували 10 хв. при 3000 об/хв. Вимірювання здійснювали у верхній фазі при довжині хвилі 532 нм.

Вміст ТБК-активних продуктів розраховуємо за формулою:

$$C_m = \frac{A \times 10^6 \times 3}{1,56 \times 10^5 \times 0,1} ,$$

де

$C_m$  – концентрація ТБК-активних продуктів, у мкмоль/л;

$A$  – оптична щільність проби;

3 мл – об'єм водної фази;

0,1 мл – об'єм проби;

$10^6$  – коефіцієнт перерахунку з моль/л на мкмоль/л;

$1,56 \cdot 10^5$  – молярний коефіцієнт екстинкції.

## 2.5 Визначення ТБК – активних продуктів у еритроцитах крові

Метод заснований на утворенні забарвленого комплексу при взаємодії МДА з тібарбітуровою кислотою.

Реактиви:

1. Розчин трихлороцтової кислоти (ТХО), 170 г/л;
2. Розчин 2 – тіобарбітурової кислоти (ТБК), 8 г/л
3. Розчин хлориду натрію, ізотонічний, 0,15 моль/л (9 г/л)

Методика наведена у Табл. 2.3.

Хід визначення. Для дослідження відбирають 0,1 мл еритроцитів, тричі відмитих охолодженим ізотонічним розчином, і гемолізуються внесенням у пробірку 2,0 мл дистильованої води. До отриманого гемолізату додають 1 мл розчину ТБК та 1,0 мл ТХО. Пробу прогрівають у киплячій водяній лазні протягом 10 хв., потім центрифугують 10 хв. при 3000 об/хв. Інтенсивність забарвлення вимірюють при довжині хвилі 540 нм у кюветі з товщиною шару 1 см.

Таблиця 2.3

**Схема визначення ТБК-активних продуктів у еритроцитах**

| Реагенти                                                                                     | Контроль | Експериментальний зразок |
|----------------------------------------------------------------------------------------------|----------|--------------------------|
| 1                                                                                            | 2        | 3                        |
| Біологічний матеріал: еритроцити                                                             | ————     | 0,10                     |
| Дистильована вода                                                                            | 2,00     | 2,00                     |
| трихлороцтової кислоти,                                                                      | 1,00     | 1,00                     |
| тіобарбітурова кислота, мл                                                                   | 1,00     | 1,00                     |
| інкубація 10 хв. при 100 °С з наступним охолодженням,<br>центрифугують 10 хв. при 3000 об/хв |          |                          |

Вміст ТБК-активних продуктів розраховуємо за формулою:

$$C(\text{мкмоль/л}) = \frac{A_{\text{досл}} \cdot 10^6 \cdot 4}{1,56 \cdot 10^5 \cdot 0,1}$$

де

$A_{\text{досл}}$  – оптична щільність проби;

4 мл – об'єм водної фази;

0,1 мл – об'єм проби;

$10^6$  – коефіцієнт перерахунку з моль/л на мкмоль/л;

$1,56 \cdot 10^5$  – молярний коефіцієнт екстинкції.

**2.6 Визначення активності супероксиддисмутази в еритроцитах**

У результаті окиснення кверцетину при рН 10.0 у присутності N,N,N1,N1-тетраметилетилендіаміна в аеробних умовах відбувається генерація супероксидного аніон-радикалу, що у присутності СОД піддається дисмутації. Це виявляється в гальмуванні реакції окиснення кверцетину.

**Реактиви:**

1. ЭДТА, 0,5 мМ розчин.
2. N,N,N1,N1-тетраметилетилендіаміна (ТЕМЕД) 0,05 М розчин.  
Перед дослідженням активності СОД 0,28 мл розчину ТЕМЕД доливають до 40 мл розчину ЭДТА і отриману суміш використовують для аналізу; розчин №1.
3. Фосфатний буфер 0,1 М, рН 7,8. Для приготування буфера використовують  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  і до рН 7,8 доводять за допомогою 0,1 М розчину  $\text{HCl}$ .
4. Кверцетин: 1,5 мг розчиняють у 10 мл диметилсульфоксиду.

Методика наведена у Табл. 2.4.

**Хід визначення:**

Інкубаційна суміш складається з 0,5 мл розчину № 1, 0,5 мл фосфатного буфера, 0,1 мл розчину кверцетина. У дослідну пробу додають біологічний матеріал, який містить СОД. Загальний обсяг контрольної і дослідної проб доводять дистилірованою водою до 3 мл. Відразу реєструють оптичну щільність контрольної та дослідної проб при довжині хвилі 406 нм. Реакція окиснення кверцетина здійснюється протягом 20 хв при кімнатній температурі. Після закінчення інкубації реєструють оптичну щільність обох проб і розраховують різницю між початковими і кінцевими показаннями приладу [9, 43].

*Таблиця 2.4*

**Схема визначення СОД у еритроцитах**

| Реактив                                     | Холоста проба | Досліджувана проба |
|---------------------------------------------|---------------|--------------------|
| 1                                           | 2             | 3                  |
| Розчин №1 (0,28 мл ТЕМЕД і 40 мол ЭДТА), мл | 0,500         | 0,500              |
| Фосфатний буфер, рН 7,8, мл                 | 0,500         | 0,500              |

Продовження таблиці 2.4

| 1                                             | 2     | 3     |
|-----------------------------------------------|-------|-------|
| Кверцетин, мл                                 | 0,100 | 0,100 |
| Біологічний матеріал:<br>Гемолизат крові, мл; | —     | 0,100 |
| Дистилірована вода, мл.                       | 2,000 | 2,000 |

Розрахунок проводять за формулою:

$$A = (E_k / E_o - 1) * N / \alpha ,$$

де

$E_k$  – зміна оптичної щільності при 406 нм за 20 хв в контрольній пробі;

$E_o$  - – зміна оптичної щільності при 406 нм за 20 хв. в дослідній пробі;

$N$  – розведення біологічного матеріалу;

$\alpha$  - концентрація загального білку.

## 2.7 Метод визначення активності глутатіонпероксидази

Активність глутатіонпероксидази (ГП) оцінювали за зміною вмісту ВГ у пробах до та після інкубації з гідро пероксидом трет-бутилу (ГПТБ) за кольоровою реакцією з дітіонітробензойною кислотою (ДТНБ). 0,73 мл буфера на 200 мкг протеїну цитозольної фракції. Реакційну суміш витримували 10 хв при 37 °С. Реакцію ініціювали 0,14 %-м розчином ГПТБ (100 мкл), інкубували 5 хв при 37 °С, зупиняли реакцію 20 %-м розчином ТХО (200 мкл). У контрольні проби ГПТБ вносили після осадження протеїну ТХО. Після центрифугування (10 хв, 1500 g) до 0,5 мл над осадкової рідини додавали 2,65 мл 0,1 М трис-НС1 буфера (рН 8,5), що містить 6 мМ ЕДТА, та 0,025 мл 0,4 %-го метанолового розчину ДТНБ. Знову центрифугували (10 хв, 1500 g) та вимірювали оптичну густину при довжині хвилі 412 нм проти дистильованої води. Активність ензиму виражали у нмоль

відновленого глутатіону на 1 мг протеїну цитозольної фракції. Вміст відновленого глутатіону підраховували за калібрувальним графіком [21, 47].

## 2.8 Метод визначення активності каталази в експериментах *in vitro*

Дослідження активності проводили із нативною каталазою печінки бика, придбаною у Sigma-Aldrich, Inc. Як досліджувані речовини були обрані кластерні сполуки диренію(III): біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- $\mu$ -ізобутиратодиреній(III) цис-Re<sub>2</sub>(i-C<sub>3</sub>H<sub>7</sub>COO)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>•2ДМСО (Re<sub>cis-isobut</sub>) та біс-ацетонітрил-тетрахлороди- $\mu$ -ацетіламіноадамантилкарбоксилатодиреній(III) Re<sub>2</sub>(CH<sub>3</sub>CONHC<sub>10</sub>H<sub>14</sub>COO)<sub>2</sub>Cl<sub>4</sub>\*<sub>2</sub> CH<sub>3</sub>CN (Re<sub>AcAd</sub>).

Дослідження каталазної активності *in vitro* проводили за [8] з деякими модифікаціями: до 2 мл 0,3 % гідроген пероксиду додавали 0,1 мл розчину досліджуваної речовини, потім отриману суміш інкубували протягом 10 хв, після цього додавали 1 мл 4 %-го розчину амоній молібдату і реєстрували оптичну густину при 410 нм, оскільки саме за цієї довжини хвилі спостерігається поглинання комплексу молібдену із залишковим гідроген пероксидом. Попередньо визначали відсутність взаємодії амоній молібдату з комплексною сполукою диренію(III) та постійність концентрації 0,3 % гідроген пероксиду протягом 10 хв.

Визначення каталазної активності комплексних сполук диренію(III) проводили у водних розчинах у концентраціях 1•10<sup>-6</sup> М, 2•10<sup>-6</sup> М, 3•10<sup>-6</sup> М, 4•10<sup>-6</sup> М, 5•10<sup>-6</sup> М, 1•10<sup>-5</sup> М. Каталазну активність I і II порівнювалася з каталазною активністю розчину каталази у тій самій концетрації, яка приймалася за 100%.

Каталазну активність розраховували згідно [8] за формулою

$$E = (A_{\text{хол}} - A) \cdot V \cdot t \cdot K \text{ (мкат/л)},$$

де

E-активність каталази;

A<sub>хол</sub> і A<sub>дос</sub> оптична густина холостої та дослідних проб;

$V$  – об’єм проби,  $t$  – час інкубації;

$K$  – коефіцієнт екстинції гідроген пероксиду.

Для дослідження взаємодії  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  з каталазою готували розчини білку ( $1 \cdot 10^{-6}$  М) і додавали такий самий об’єм  $1 \cdot 10^{-5}$  М  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і або  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ , отримуючи суміш білок :  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ ,  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  у молярному співвідношенні 1 : 10. Каталазну активність отриманих комплексів білок :  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ ,  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  вимірювали так само, як описано вище.

## 2.9 Спектральні дослідження

Взаємодію нативної каталази та ренієвої сполуки ( $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ ) досліджували за допомогою електронної абсорбційної спектроскопії. Для цього готували розчин білку з концентрацією  $1 \cdot 10^{-6}$  М, додавали рівний об’єм розчину  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  з концентрацією  $1 \cdot 10^{-5}$  М, отримуючи суміш білок :  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  у співвідношенні 1 : 10. Електронні спектри поглинання (ЕСП) отриманого комплексу каталаза : ренієва сполука реєстрували у двох діапазонах УФ-області: 250-280 нм і 320-430 нм через кожні 5 нм на спектрофотометрі СФ-46. Товщина світлопоглинаючого шару складала 1 см [2].

## 2.10 Статистична обробка результатів

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Excel, використовуючи  $t$ -критерій Ст’юденту та визначення кореляційних зв’язків. Вірогідним вважали результати, якщо  $P < 0,05$  [12]. При цьому у таблицях для позначення достовірної розбіжності по відношенню до контролю використовували наступні символи: \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ .

Розрахунок похибки вимірювання проводили за формулою:

$$\text{похибка вимірювання} = \frac{\text{статистичне відхилення}}{\sqrt{n}},$$

де

n – число випробувань.

## **Висновки до розділу 2**

В даному розділі було описано наступні біохімічні методи: експериментальні моделі канцерогенезу (розвиток звичайної та резистентної карциноми Герена. Фотоколориметричні методи – для визначення вмісту ТБК-активних продуктів та активності ферментів антиоксидантного захисту (каталази, супероксиддисмутази, глутатіонпероксидази) в крові щурів. Спектральні для визначення спектрів поглинання дослідних речовин. Ензиматичні для вивчення ферментативних властивостей дослідних сполук. Приведено статистичні методи оцінки отриманих результатів. Усі використані методи є загально прийнятими та їх використання є доцільним для досягнення поставленої мети.

Данні методичні рекомендації були використані в наступних публікаціях [2, 13, 43, 115, 156, 167].

## РОЗДІЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1 Регуляція оксидативного стресу крові щурів-пухлиноносіїв за введення протипухлинної системи Реній-Платина і розвитку карциноми Герена

##### 3.1.1 Вплив способу введення кластерних сполук Ренію і системи Реній-Платина на інтенсивність оксидативного стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку карциноми Герена

У наших попередніх роботах було показано, що кластерні сполуки Ренію(III) з органічними лігандами мають антиканцерогенну та антирадикальну активність, особливо ефективну при комбінованому застосуванні із сполуками Платини (система Re-Pt) [115, 116, 162]. Серед цих сполук найбільш вивченою є дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиреній(III)  $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$  – ( $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ ) [31]. Ця сполука як окремо, так і у складі Реній-Платинової системи мала протипухлинну, гепато- та нефропротекторну активність.  $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$  має кілька структурних особливостей (Рис. 3.1), які можуть бути відповідальними за вищезазначені властивості:

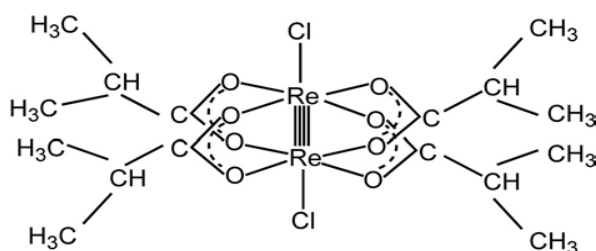


Рис. 3.1 Дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиреній(III) – ( $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ )

а) біядерне угруповання з атомів Ренію – як основний компонент молекули характеризується низькою токсичністю;

- б) почверний зв'язок, який відповідає за антирадикальні та антиоксидантні властивості;
- в) атоми Хлору здатні взаємодіяти з полярними молекулами;
- г) розгалужені алкільні групи та їх симетричне розташування, що забезпечує гідрофобні взаємодії.

Одним з напрямків подальшого дослідження  $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$  та інших кластерних сполук Ренію є пошук оптимального способу введення сполуки окремо і в системі  $\text{Re-Pt}$ , за якого досягається як ефективне гальмування новоутворення, так і гасіння інтенсивності радикального вибуху, що супроводжує розвиток пухлини.

Обрана модель пухлинного росту – карцинома Герена (Т8) – характеризується інтенсивним ростом та на 21 день після трансплантації ракових клітин досягає маси 50 - 65 г, що складає 20 – 40 % маси тіла тварини (Табл. 3.1).

Таблиця 3.1

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в плазмі експериментальних тварин за введення сполук Ренію з тетраізобутиратним лігандом ( $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ ) способом 1,**

**n = 8 – 10**

|          | Експериментальні групи                                     | Маса пухлини, г       | Гальмування, % до Т8 | Вміст ТБК, мкмоль/л     |
|----------|------------------------------------------------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|
| 1        | 2                                                          | 3                     | 4                    | 5                       |
| 1        | Контроль                                                   | -                     | -                    | $7,69 \pm 0,38$         |
| 2        | Т8                                                         | $63,27 \pm 3,16$      | -                    | $52,88 \pm 2,64 \#$     |
| 3        | cPt                                                        | $17,72 \pm 0,89^{**}$ | $71,99 \pm 3,60$     | $21,16 \pm 1,06 \#, *$  |
| Спосіб 1 |                                                            |                       |                      |                         |
| 4        | $\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}}] \text{ sln}$ | $50,34 \pm 3,08^{*¥}$ | $20,44 \pm 1,02^*$   | $19,48 \pm 0,99^{* \#}$ |

## Продовження таблиці 3.

| 1 | 2                                               | 3              | 4             | 5                |
|---|-------------------------------------------------|----------------|---------------|------------------|
| 5 | T8 + [ Re <sub>tetraisobut</sub> ] lip          | 46,33 ± 2,31*¥ | 26,77 ± 1,34* | 17,54 ± 0,88*#   |
| 6 | T8 + [ Re <sub>tetraisobut</sub> ] nl           | 45,64 ± 2,15*  | 27,86 ± 1,39* | 19,50 ± 0,90*#   |
| 7 | T8 + [ Re <sub>tetraisobut</sub> ] np           | 34,68 ± 2,46*  | 45,18 ± 2,26* | 12,44 ± 0,60***# |
| 8 | T8+ [ Re <sub>tetraisobut</sub> ]np<br>(per os) | 29,80 ± 1,49*  | 52,90 ± 2,65* | 11,54 ± 0,58***# |

# – P<0,05 відносно контрольної групи,

\* – P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001 відносно групи T8,

¥ – P<0,05 відносно групи T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] np

У групі T8 спостерігалось значне підвищення (більш ніж у 6 разів) концентрації ТБК-активних продуктів, що свідчить про інтенсифікацію процесу ПОЛ, притаманну «радикальному вибуху» у цій моделі. При дії cPt (група cPt) маса пухлини на 21 добу у 3,5 рази менше порівняно з групою T8. Також практично вдвічі знижується інтенсивність ПОЛ у плазмі крові щурів з карциномою Герена, яким вводили цисплатин, завдяки гальмуванню росту пухлини.

За введення Re<sub>tetraisobut</sub> внутрішньочеревно та per os способом 1 (групи T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] sln, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] lip, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] nl, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] np, T8+ [Re<sub>tetraisobut</sub>] np (per os)) маса пухлини зменшувалась на 20 – 53 %, тобто, набагато менше, ніж за введення cPt. Проте, гальмування інтенсивності ПОЛ відбувалося у більшому ступені, в деяких експериментальних групах практично вдвічі більше, ніж у групі за введення cPt.

Слід зазначити, що різні форми введення однакових кількостей Re<sub>tetraisobut</sub> відрізняються за своєю ефективністю щодо гальмування росту пухлини: за введення ліпосомних форм (група T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] lip, T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] nl) і розчину (група T8 + [Re<sub>tetraisobut</sub>] sln) гальмування пухлини відбувається менше, ніж за введення твердих наночасток, навантажених Re<sub>tetraisobut</sub>. Ці

спостереження вказують на актуальність подальших досліджень з використанням твердих наночастинок, навантажених протипухлинними речовинами. Адже відомо, що саме ця лікарська форма є зручною для зберігання і введення медичних препаратів [148]. Слід також відзначити, що розмір ліпосоми практично не впливає на показники ефективності гальмування пухлини і оксидативного стресу у цих експериментах, якщо порівняти групу T8 + [Re<sub>tetraiso</sub>but ] lip та групу T8 + [Re<sub>tetraiso</sub>but ] nl. Отже, окреме введення Re<sub>tetraiso</sub>but щурам-пухлиноносіям у різних формах показало помірну протипухлинну активність Re<sub>tetraiso</sub>but, здатність цієї кластерної сполуки незалежно від форми введення до гальмування оксидативного стресу крові тварин та перспективність використання твердих наночастинок у терапії для пошуку нових класів протипухлинних засобів.

Введення компонентів системи Re-Pt способом 2 є зразком ефективного, практично повного гальмування росту перещепленої пухлини (Табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в плазмі експериментальних тварин за введення компонентів системи Реній-Платина з тетраізобутиратним лігандом (Re<sub>tetraiso</sub>but) способом 2, n = 8 – 10**

|   | Експериментальні групи                                | Маса пухлини, г | Гальмування, % до T8 | Вміст ТБК, мкмоль/л  |
|---|-------------------------------------------------------|-----------------|----------------------|----------------------|
| 1 | T8 + cPt+[Re <sub>tetraiso</sub> but ] lip,           | 0,28 ± 0,01***  | 99,56±4,98***        | 5,12 ± 0,26 **       |
| 2 | T8 + cPt + [Re <sub>tetraiso</sub> but ] nl           | 1,98 ± 0,11***  | 96,87±4,84***        | 11,90±0,62 **#       |
| 3 | T8 + cPt + [Re <sub>tetraiso</sub> but ] np           | 0,93 ± 0,05***  | 98,53±4,93***        | 8,65 ± 0,43 **       |
| 4 | T8 + cPt+[Re <sub>tetraiso</sub> but ] np<br>(per os) | 0,21± 0,01***   | 99,67±4,98***        | 12,02 ± 0,64<br>***# |

#–P<0,05 відносно контрольної групи,

\*– P<0,05; \*\* – P<0,01; \*\*\* – P<0,001 відносно групи T8

У більшості експериментальних тварин ріст пухлини значно гальмувався незалежно від схеми введення компонентів системи. Ефективність дії протипухлинної системи Re-Pt доведено на багатьох кластерних сполуках Ренію, що продемонстровано у попередніх роботах нашої групи та обумовлено, на нашу думку, синергічним або адитивним механізмом взаємодії сполук Платини та Ренію з ДНК. Слід зазначити, що введення компонентів системи Re-Pt способом 2 призводить не тільки до значного гальмування росту пухлини, але й до значного зниження (нормалізації) концентрації продуктів ПОЛ.

Отримані результати з ефективності системи Re-Pt стали поштовхом для створення нових наноформ, а саме, розробки форм наноліпосом та твердих наночасток, які б містили всередині ліпідної нанокапсули обидва цитостатики – cPt і Re <sub>tetraisobut</sub> (Табл. 3.3).

Таблиця 3.3

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в плазмі експериментальних тварин за введення сполук Re <sub>tetraisobut</sub> у системі способом 3, n = 8 – 10**

|   | Експериментальні групи                                | Маса пухлини, г | Гальмування, % до Т8 | Вміст ТБК, мкмоль/л  |
|---|-------------------------------------------------------|-----------------|----------------------|----------------------|
| 1 | 2                                                     | 3               | 4                    | 5                    |
| 1 | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] nl         | 1,38 ± 0,07***  | 97,82±4,89***        | 7,53 ± 0,38 **       |
| 2 | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] np         | 2,39 ± 0,12***  | 96,22±4,81***        | 12,72 ± 0,64<br>***# |
| 3 | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] np(per os) | 27,31 ± 1,37**  | 56,84 ±2,84**        | 31,09 ± 1,55 *<br>#  |
| 4 | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:2)] nl         | 18,13 ± 0,90**  | 71,35 ±3,57**        | 10,90 ± 0,55<br>***# |

Продовження таблиці 3.3

| 1 | 2                                              | 3             | 4             | 5               |
|---|------------------------------------------------|---------------|---------------|-----------------|
| 5 | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:2)] np | 30,03 ± 1,51* | 52,54 ± 2,63* | 26,44 ± 1,22 *# |

# – P<0,05 відносно контрольної групи,

\* – P<0,05; \*\* – P<0,01; \*\*\* – P<0,001 відносно групи T8

Як було відмічено в літературному огляді (Розділ 1. Глава 1.3) такі змішані наноліпосоми та тверді наночастки були синтезовані і охарактеризовані [116]. Введення піддослідним тваринам комбінованої системи Re-Pt у змішаних наноліпосомах (T8+[Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:1)] nl) і наночастках (T8+[Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:1)] np) 3-м способом виявилось також ефективним, як з точки зору протипухлинних властивостей, так і антиоксидантних, за виключенням експериментів, де було збільшено кількість цисплатину всередині нанокапсули (групи T8+[Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:2)] nl, T8+[Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:2)] np) і де вводилися змішані наночастки per os (група T8+[Re<sub>tetraisobut</sub> + cPt(4:1)] np(per os)). Можливість варіювання вмістом цитостатиків всередині нанокапсули, на нашу думку, є значним кроком уперед в напрямку нанотехнологій та комбінаційної терапії у лікуванні раку.

Окрім вмісту ТБК-активних продуктів в плазмі крові, вивчався також вміст ТБК-активних продуктів в еритроцитах (Табл. 3.4).

Таблиця 3.4

**Концентрація ТБК-активних продуктів в еритроцитах  
експериментальних тварин, n = 8 – 10**

|   | Експериментальні групи | Вміст ТБК, мкмоль/л |
|---|------------------------|---------------------|
| 1 | 2                      | 3                   |
| 1 | Контроль               | 7,54 ± 0,38 **      |
| 2 | T8                     | 50,74±2,54#         |

Продовження таблиці 3.4

| 1 | 2                                           | 3            |
|---|---------------------------------------------|--------------|
| 3 | T8 +cPt                                     | 20,36±1,01*  |
| 4 | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] nl          | 19,75±0,99*  |
| 5 | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] np          | 13,19±0,66*  |
| 6 | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] nl+cPt      | 10,45±0,52** |
| 7 | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] np+cPt      | 7,76±0,39**  |
| 8 | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] nl | 8,24±0,41**  |
| 9 | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] np | 13,68±0,68*  |

# - P<0,05 відносно контрольної групи,

\*– P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001 відносно групи T8

Порівнюючи інтенсивність перекисного окиснення ліпідів в еритроцитах та в плазмі крові щурів можна побачити, що не має суттєвої різниці між вмістом ТБК-активних продуктів як в контрольних групах і групах щурів-пухлиноносіїв, так і за введення дослідних сполук Ренію. Тобто, не зважаючи на форму введення кластерних сполук Ренію відбувається зниження інтенсивності ПОЛ в еритроцитах щурів за розвитку карциноми Герена.

Якщо відомі антиоксиданти призводять до зниження інтенсивності ПОЛ крові за різних патологій максимально у 1,5 – 2 рази, то ефективність гальмування процесу ПОЛ сполукою Re<sub>tetraisobut</sub> набагато перевищує ефективність відомих антиоксидантів і досягає чотирьохкратної величини.

У наших експериментах розвиток оксидативного стресу (група T8) призводить до зниження активності еритроцитарних СОД (на 14 %) та КАТ (на 59 %) у порівнянні з контролем (Табл. 3.5).

Таблиця 3.5

**Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів  
експериментальних тварин (у % до контролю), n = 8 – 10**

|          | Експериментальні групи                                  | Активність СОД,<br>% | Активність КАТ,<br>% |
|----------|---------------------------------------------------------|----------------------|----------------------|
| 1        | Контроль                                                | 100,00               | 100,00               |
| 2        | T8                                                      | 85,92 ± 5,20#        | 41,08 ± 2,05#        |
| 3        | cPt                                                     | 291,49 ± 6,62#,*     | 66,70 ± 3,34#*       |
| Спосіб 1 |                                                         |                      |                      |
| 4        | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> ] sln                   | 264,15 ± 7,18***#    | 84,16 ± 3,96*#       |
| 5        | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> ] lip                   | 292,13 ± 9,15***#    | 91,84 ± 4,59*        |
| 6        | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> ] nl                    | 294,00 ± 10,24***#   | 90,46 ± 5,02*        |
| 7        | T8 + [Re <sub>tetraisobut</sub> ] np                    | 262,15 ± 8,15***#    | 94,46 ± 4,32*        |
| 8        | T8+ [Re <sub>tetraisobut</sub> ] np (per os)            | 198,32 ± 7,14*#      | 86,18 ± 4,02*#       |
| Спосіб 2 |                                                         |                      |                      |
| 9        | T8+ cPt +[Re <sub>tetraisobut</sub> ] lip,              | 290,14 ± 8,04***#    | 64,16 ± 3,18*#       |
| 10       | T8+cPt+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] nl                  | 280,15 ± 7,56***#    | 68,14 ± 3,26*#       |
| 11       | T8+cPt+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] np                  | 246,18 ± 6,16***#    | 82,14 ± 4,12*#       |
| 12       | T8+cPt+[Re <sub>tetraisobut</sub> ] np(per os)          | 218,14 ± 5,84***#    | 80,46 ± 4,18*#       |
| Спосіб 3 |                                                         |                      |                      |
| 12       | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] nl             | 318,46 ± 11,56***#   | 72,18 ± 4,12*#       |
| 13       | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] np             | 306,15 ± 8,14***#    | 84,18 ± 5,46*#       |
| 14       | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)] np (per<br>os) | 242,14 ± 7,18***#    | 90,32 ± 6,28*        |
| 16       | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:2)] nl             | 261,18 ± 8,14***#    | 62,16 ± 4,14*#       |
| 17       | T8+[Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:2)] np             | 274,15 ± 8,45***#    | 60,12 ± 3,96#        |

#–P<0,05 відносно контрольної групи,

\*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–P<0,001 відносно групи T8

Введення цисплатину (група cPt) призводить до значного підвищення активності (практично втричі) СОД і зменшення активності КАТ (в 1,5 рази) у порівнянні з контролем і підвищення активності СОД і КАТ у порівнянні з групою Т8. Введення  $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$  призводить до активації СОД у порівнянні з контролем (в 2-3,1 рази) та у порівнянні з групою пухлиноносіїв (в 2,1 – 3,3 рази) та цисплатиновою групою (на 5-9 % для груп Т8 +  $[\text{Re}_{\text{tetraisobut}} + \text{cPt}(4:1)]$  nl, Т8 +  $[\text{Re}_{\text{tetraisobut}} + \text{cPt}(4:1)]$  np). Активність КАТ збільшується у групах, де вводили  $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$  в 1,5-2,3 рази у порівнянні з групою Т8 і та в 1,4 рази максимум у порівнянні з цисплатиновою групою, хоча не досягає контрольних значень.

Дані щодо різного впливу сполук Re та Pt на активність СОД і КАТ можна пояснити, по-перше, різним їх впливом на еритропоез. Зокрема, за канцерогенезу відбувається пригнічення Nrf-2 (еритроїд-похідного) ядерного фактору, який регулює експресію антиоксидантних ензимів [95, 104, 136]; кластерні сполуки Ренію підтримують процес еритропоезу за розвитку новоутворення; цисплатин пригнічує еритропоез, формуються еритроцити із менш коротким строком життя, проте з більшою кількістю СОД.

З іншого боку, металоорганічні сполуки можуть безпосередньо взаємодіяти з ензимами антиоксидантного захисту еритроцитів. Однак, відомо, що цисплатин за безпосередньої взаємодії дезактивує ензими СОД і КАТ, зв'язуючись з тіольними залишками цистеїну. В той же час для сполук Ренію безпосередня активація ензимів можлива.

За розрахунками, проведеними відповідно до [122] та виходячи з наших даних, можна стверджувати, що параметри в контрольній групі відповідають І зоні інтенсивності оксидативного стресу [123] (Табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Параметри оксидативного стресу крові експериментальних тварин з  
урахуванням інтенсивності оксидативного стресу, n = 8 – 10**

| Параметри<br>редокс стану                 | Зони, що відрізняються за інтенсивністю оксидативного стресу |                                |                   |                   |
|-------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------|-------------------|-------------------|
|                                           | I низька                                                     | II низька                      | III середня       | IV висока         |
| Вміст ТБК-активних продуктів, ммоль/л (%) | 7,69<br>(100)                                                | 5,12-12,02<br>(66,57-156,31)   | 21,16<br>(275,16) | 52,82<br>(686,87) |
| Активність СОД, %                         | 100                                                          | 218,14-290,14                  | 291,49            | 85,92             |
| Активність КАТ, %                         | 100                                                          | 64,16-82,14                    | 66,70             | 41,08             |
| Групи                                     | Контроль                                                     | Групи за введеннями способом 2 | cPt<br>(умовно)   | T8                |

Групи, де вводили дослідні сполуки 2-м способом відповідають II зоні. Параметри cPt групи та групи T8 – III та IV зоні відповідно.

Згідно класифікації наведеної в [123], існують чотири зони горметичної (від грецького *гормезис* – мінливість) кривої оксидативного стресу, які відрізняються за інтенсивністю стресу та відгуком ензимних систем на підвищення концентрації індукторів радикального вибуху. Перша зона, до якої, напевно, відноситься група Контроль, має базальні характеристики оксидативного стресу.

Друга зона характеризується підвищеною інтенсивністю оксидативного стресу та активацією або помірною дезактивацією ензимів антиоксидантного захисту. До цієї зони можна віднести групи за введення системи Re-Pt 2-м

способом. Четверта зона, якій притаманні висока ступінь оксидативного стресу і дезактивація ензимів антиоксидантного захисту, напевне, включає групу T8. Щодо групи cPt, то, за вищезазначеними параметрами її можна віднести до III зони тільки умовно, оскільки тут спостерігається підвищена активація СОД. Інші групи, які були нами вивчені, також можна віднести до зон II або III тільки умовно. Отже, отримані дані стосовно інтенсивності оксидативного стресу та активності ензимів антиоксидантного захисту можна пояснити залежністю концентрація індуктора стресу → ефект тільки частково [156].

Інтерпретація даних стосовно активності КАТ ускладнюється тим, що в еритроцитах існує ще один ензим, який розкладає гідроген пероксид – глутатіонпероксидаза. Оскільки активність КАТ зменшувалася в крові експериментальних щурів порівняно з контролем в усіх групах, то для деяких груп додатково було проведено дослідження активності ГП (Рис. 3.2).

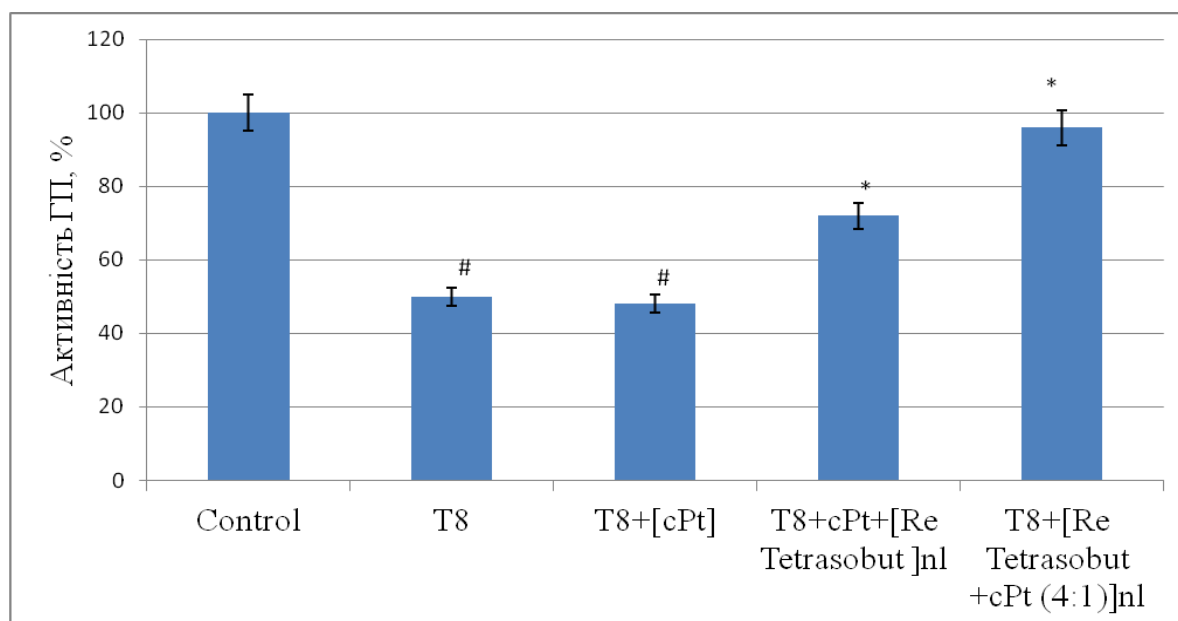


Рис. 3.2 Активність глутатіонпероксидази еритроцитів в деяких групах експериментальних тварин

#– $P < 0,05$  відносно контрольної групи,

\*–  $P < 0,05$  відносно групи T8

В процесі росту перещепленої карциноми Герена активність ГП знижується на 50 %, порівняно з контролем (Рис. 3.1). Причини зниження активності цього ензиму, вірогідно, такі самі, як і для інших ензимів антиоксидантного захисту. Введення cPt не вплинуло на активність ензиму у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв (Т8), не дивлячись на значний протипухлинний ефект cPt. Оскільки ГП є глутатіон-залежним ензимом, то необхідно зазначити, що cPt безпосередньо взаємодіє з глутатіоном [107] та специфічно зв'язується з селеновими і тіоловими групами в активному центрі ГП [139], що призводить до інактивації ензиму. Вірогідно, саме тому за значного гальмування пухлини рівень активності ГП не зростає.

За введення системи Re-Pt (2 та 3 способи) спостерігалось підвищення активності ензиму на 22-77 % порівняно з групою Т8. Отже, нормалізація редокс-стану еритроцитів під дією  $\text{Re}_{\text{tetraiso-but}}$  може бути пояснена як активацією СОД, внаслідок чого зменшується концентрація супероксидного аніону, так і активацією ГП, яка призводить до зниження концентрації гідроген пероксиду. Активація ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів і зниження концентрації активних форм кисню обумовлює зниження інтенсивності процесу ПОЛ самої клітини і всього організму в цілому.

Активація еритроцитарної СОД за введення деяких сполук Ренію була пояснена нами їхньою СОД-подібною активністю або можливою взаємодією з молекулою СОД із наступною зміною конформації апоензима та відповідним підсиленням швидкості реакції у активному центрі ензиму [13].

Отже, регуляція оксидативного стресу крові щурів-пухлиноносіїв кластерними сполуками Ренію відбувається, в першу чергу, за допомогою унікального почверного зв'язку, здатного до гасіння радикальних реакцій, позитивного впливу на процес еритропоезу, можливий безпосередній взаємодії з ензимами антиоксидантного захисту і притаманній їм СОД-подібній активності. Як вже було зазначено в попередніх розділах, пошук

низькомолекулярних СОД-міметиків серед кластерних сполук Ренію є перспективним напрямком дослідження.

Отже, досліджено вплив способу введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) – (у водному розчині, ліпосомах, наноліпосомах, твердих наночастках і разом з цисплатином – система Реній-Платина) на інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів у моделі пухлинного росту.

Встановлено зменшення вмісту ТБК-активних продуктів плазми за введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) щурам-пухлиноносіям незалежно від способу та інтенсивності гальмування пухлини.

Показано ефективність зниження (до чотирьох разів) інтенсивності перекисного окиснення ліпідів за введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III), що значно перевищує ефективність відомих антиоксидантів.

Виявлено збільшення активності супероксиддисмутази (у середньому на 168 %) та зменшення активності каталази (у середньому на 20 %) еритроцитів за введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) різними способами у порівнянні з контролем.

Показано перспективність використання кластерних сполук Ренію у медицині як нетоксичних ефективних антиоксидантів, здатних до дезактивації супероксидного радикалу.

Вперше показано, що незалежно від форми введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) (наноліпосоми, тверді наночастки, змішані ліпосоми, змішані тверді наночастки) окремо і разом з цисплатином його вплив поряд із антиканцерогенною дією сприяє зменшенню інтенсивності оксидативного стресу (на 41-83 %) та збільшенню активності супероксиддисмутази (на 130-270 %) у порівнянні з групою пухлиноносіїв [32, 156].

Як витікає з літературного огляду, дослідження антиоксидантних властивостей кластерних сполук Ренію з такими лігандами, як заміщені і *транс*-адаманти, індольні та ферулатні не проводилося. В той же час

доведено, що саме від природи і орієнтації лігандів навколо почверного зв'язку залежить здатність кластерних сполук Ренію до взаємодії з вільними радикалами *in vitro* та *in vivo*.

Отже, наступним етапом нашої роботи було дослідження антиоксидантних властивостей сполук Ренію з адамантільними, індолними та ферулатними лігандами, та порівняння цих властивостей з такими для кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами.

### 3.1.2 Вплив кластерних сполук Ренію з адамантільними лігандами і системи Реній-Платина на інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку карциноми Герена

Як і за введення  $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ , за введення кластерних сполук Ренію з адамантільними лігандами різними способами відбувається гальмування пухлини та оксидативного стресу (Табл. 3.7).

Таблиця 3.7

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в еритроцитах експериментальних тварин за введення сполук Ренію з адамантільними лігандами способом 1,  $n = 8 - 10$**

|          | Експериментальні групи                 | Маса пухлини, г         | Гальмування, % до Т8 | Вміст ТБК, мкмоль/л |
|----------|----------------------------------------|-------------------------|----------------------|---------------------|
| 1        | 2                                      | 3                       | 4                    | 5                   |
| 1        | Контроль                               | -                       | -                    | $7,57 \pm 0,38$     |
| 2        | Т8                                     | $63,27 \pm 3,16\#$      | -                    | $50,74 \pm 2,54 \#$ |
| 3        | Т8+cPt                                 | $17,72 \pm 0,89\#^{**}$ | $71,99 \pm 3,60$     | $20,36 \pm 1,01^*$  |
| Спосіб 1 |                                        |                         |                      |                     |
| 4        | Т8+[ $\text{Re}_{\text{trans-Ad}}$ ]nl | $39,86 \pm 1,99^*$      | $37,00 \pm 1,85^*$   | $41,67 \pm 2,08^*$  |

Продовження таблиці 3.7

| 1 | 2                                      | 3            | 4           | 5            |
|---|----------------------------------------|--------------|-------------|--------------|
| 5 | T8+[Re <sub>cis-Ad</sub> ]nl           | 44,64±2,23*  | 29,45±1,47* | 17,63±0,88*  |
| 6 | T8+[Re <sub>NH<sub>2</sub>Ad</sub> ]nl | 45,84 ±2,29* | 27,54±1,38* | 28,4±1,42*   |
| 7 | T8+[Re <sub>AcAd</sub> ]nl             | 47,14±2,36*  | 25,49±1,27* | 12,56±0,63** |

# - P<0,05 відносно контрольної групи,

\* – P<0,05; \*\* - P<0,01; \*\*\* - P<0,001 відносно групи T8,

¥ - P<0,05 відносно групи T8+cPt

Введення кластерних сполук Ренію з адамантільними лігандами за розвитку карциноми Герена призводить до пригнічення пухлинного росту за введення дослідних сполук способом 1. Вага пухлини зменшується в середньому на 30 %.

Введення сполук Ренію з адамантільними лігандами способом 1 знизило вміст ТБК-активних продуктів в середньому у 2 рази порівняно з Т8. Окреме введення *цис*- та *транс*- сполук (групи T8+[Re<sub>trans-Ad</sub>]nl, T8+[Re<sub>cis-Ad</sub>]nl ) призводить до зниження вмісту ТБК-активних продуктів порівняно з Т8 на 65 % та 18 % відповідно. Слід відмітити, що сполука Ренію *транс*-конфігурації менш сильно знизила інтенсивність ПОЛ. Найбільш ефективне зниження інтенсивності ПОЛ ми спостерігаємо за введення Re<sub>cis-Ad</sub> та особливо Re<sub>AcAd</sub>, де вміст ТБК-активних продуктів наближується до групи інтактних тварин.

Введення кластерних сполук Ренію з адамантільними лігандами способом 2 знижує масу пухлини на 98-99 %, тобто відбувається майже повна редукція пухлини; введення системи Реній-Платина з одноразовим введенням цисплатину (спосіб 2) знижує інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (Табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в еритроцитах експериментальних тварин за введення сполук Ренію з адамантильними лігандами способом 2, n = 8 – 10**

|   | Експериментальні групи                       | Маса пухлини, г | Гальмування, % до Т8 | Вміст ТБК, мкмоль/л |
|---|----------------------------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|
| 1 | T8+cPt +[Re <sub>trans-Ad</sub> ] nl         | 1,45±0,07***    | 97,71±4,88***        | 14,01±0,71**¥       |
| 2 | T8+cPt +[Re <sub>cis-Ad</sub> ] nl           | 1,37±0,06***    | 97,83±4,89***        | 8,17±0,40**¥        |
| 3 | T8+cPt +[Re <sub>NH<sub>2</sub>Ad</sub> ] nl | 0,97±0,05***    | 98,47±4,92***        | 10,74±0,53**¥       |
| 4 | T8+cPt +[Re <sub>AcAd</sub> ] nl             | 0,83±0,04***    | 98,69±4,93***        | 8,02±0,40**¥        |

#–P<0,05 відносно контрольної групи, \*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–

P<0,001 відносно групи Т8, ¥ - P<0,05 відносно групи Т8+cPt

Так в групах T8+cPt +[Re<sub>trans-Ad</sub>] nl та T8+cPt +[Re<sub>NH<sub>2</sub>Ad</sub>] nl вміст ТБК-активних продуктів знижено у 3,6 та 4,7 разів відповідно, порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв. За введення інших двох груп спостерігається майже повне наближення інтенсивності ПОЛ до значення цього показника в групі інтактних тварин. В середньому, інтенсивність ПОЛ знижено у 5 разів порівняно з групою Т8. Потрібно відмітити, що інтенсивність ПОЛ менша за введення цисплатину зі сполуками Ренію з адамантильними лігандами, ніж за введення цисплатину (Табл. 3.7) більше, ніж вдвічі, що підкреслює їхню користь як модуляторів токсичності цисплатину.

Вага пухлини за введення кластерних сполук Ренію з адамантильними лігандами способом 3 знижується на 78-88 % порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв. Маса пухлини при введенні сполук Ренію з адамантильними лігандами різними способами практично не відрізняється від маси пухлини при введенні сполук Ренію з тетраізобутиратним лігандом і іншими алкільними лігандами

Введення змішаних наноліпосом Ренію з адамантильними лігандами також зменшує інтенсивність ПОЛ (Табл. 3.9).

Таблиця 3.9

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в еритроцитах експериментальних тварин за введення сполук Ренію з адамантильними лігандами способом 3,  
n = 8 – 10**

|   | Експериментальні групи                   | Маса пухлини, г | Гальмування, % до Т8 | Вміст ТБК, мкмоль/л |
|---|------------------------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|
| 1 | T8+[Re <sub>trans-Ad</sub> +cPt(4:1)] nl | 13,5±0,68**     | 78,66±3,93**         | 23,35±1,17*¥        |
| 2 | T8+[Re <sub>cis-Ad</sub> +cPt(4:1)] nl   | 9,63±0,48**     | 84,78±4,24**         | 14,42±0,72*¥        |
| 3 | T8+[Re <sub>NH2Ad</sub> +cPt(4:1)] nl    | 10,42±0,52**    | 83,53±4,18**         | 22,12±1,10*¥        |
| 4 | T8+[Re <sub>AcAd</sub> +cPt(4:1)] nl     | 7,13±0,35**     | 88,73±4,44**         | 10,90 ± 0,55*¥      |

#–P<0,05 відносно контрольної групи, \*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–

P<0,001 відносно групи Т8, ¥ –P<0,05 відносно групи Т8+cPt

Середнє зниження вмісту ТБК-активних сполук при способі 3 становить 65 % від групи Т8. Так, в групі Т8 + [Re<sub>trans-Ad</sub>+cPt(4:1)] nl вміст ТБК-активних продуктів знижено на 54 %, в групі Т8 + [Re<sub>cis-Ad</sub>+cPt] nl – на 72 %, Т8+[Re<sub>NH2Ad</sub>+cPt(4:1)] nl – на 56 %, Т8 + [Re<sub>AcAd</sub>+cPt(4:1)] nl – на 79 % в порівнянні з групою Т8. В групах Т8 + [Re<sub>AcAd</sub>+cPt(4:1)] nl та Т8+ [Re<sub>cis-Ad</sub>+cPt(4:1)]nl вміст ТБК-активних продуктів нижче і ніж в групі Т8+cPt, на 29-46 %. В інших двох групах (Т8 + [Re<sub>NH2Ad</sub> + cPt(4:1)] nl, Т8+ [Re<sub>trans-Ad</sub>+cPt(4:1)]nl) вміст ТБК-активних сполук вищий за цисплатинову групу, на 4-10 %. При порівнянні впливу сполук Ренію з адамантановими лігандами на інтенсивність ПОЛ з дихлоротетра-μ-ізобутиратодиренієм(III) можна відмітити, що при введенні сполук способом 1, вміст ТБК-активних продуктів менший в групах Т8 + [Re<sub>AcAd</sub>] nl, Т8 + [Re<sub>cis-Ad</sub>] nl на 11-36 %

порівняно з  $T8 + [Re_{tetraisobut}] nl$ . В групах  $T8 + [Re_{NH_2Ad}] nl$  та  $T8 + [Re_{trans-Ad}] nl$  навпаки, цей показник більший на 42-111 % порівняно з групою  $T8 + [Re_{tetraisobut}] nl$ . За введення сполук Ренію способом 2 відмічається також підвищення (для групи  $T8 + [Re_{trans-Ad}] nl + cPt$  на 34 %) та зниження для груп  $T8 + cPt + [Re_{AcAd}] nl$ ,  $T8 + cPt + [Re_{cis-Ad}] nl$  на 22 %) вмісту ТБК-активних продуктів порівняно з групою  $T8 + cPt + [Re_{tetraisobut}] nl$ . Вплив сполук введених способом 3 відрізняються від попередніх тим, що в усіх групах інтенсивність ПОЛ більша, ніж в групі  $T8 + [Re_{tetraisobut} + cPt(4:1)] nl$  на 32-182 %. Менша антиоксидантна здатність адамантильних похідних у складі змішаних наноліпосом, ніж у формі одинарних наноліпосом за введення однакових кількостей компонентів системи Реній-Платина може бути пояснена більш інтенсивною взаємодією об'ємних лігандів каркасної природи з ліпідним матриксом ліпосоми у присутності цисплатину, ніж за його відсутності. Адже відомо, що всередині нанобінів, де наявний ефект зближення (квазікристаличний стан), утворюється комплекс ренієва сполука-цисплатин-фосфатні групи фосфатидилхоліну [116]. В експериментах зі сполукою Ренію з півалатними лігандами цей ліпосомальний комплекс призводив до активації почверного зв'язку Реній-Реній. Вірогідно, об'ємні адамантильні ліганди створюють просторові утруднення щодо формування такого ліпосомального комплексу і не призводять до значної активації почверного зв'язку [13,34, 43].

Таким чином, була показана здатність сполук Ренію з адамантильними лігандами до пригнічення інтенсивності перекисного окиснення ліпідів. Введення сполук Ренію з адамантильними лігандами 2-м способом сприяло більшому зниженню вмісту ТБК-активних продуктів, ніж за введення сполук Ренію способами 1 та 3. Така ж закономірність спостерігається і при дослідженні ваги пухлини. Тобто, за окремого введення цисплатину разом зі сполуками Ренію редукція пухлини відбувається сильніше за інші способи введення дослідних сполук. Якщо ж порівнювати між собою групи щурів, яким вводили сполуки Ренію з різними адамантильними лігандами, то з усіх

використаних в даному експерименті груп, найбільш ефективними є групи з  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ . Незалежно від способу введення саме в цих групах спостерігається наближення інтенсивності ПОЛ до значення групи з інтактними тваринами. Найменш ефективною виявилася сполука  $\text{Re}_{\text{trans-Ad}}$ , незалежно від способу введення. Згідно з роботою І. Леус [13], сполуки Ренію з ізобутиратним лігандом в *цис*-конфігурації більше пригнічують ПОЛ, ніж сполуки *транс*-конфігурації.

Введення сполук Ренію з адамантільними лігандами способом 1 призводить до збільшення активності СОД порівняно з групою Т8 в середньому у 3,7 рази (Табл. 3.10).

Таблиця 3.10

**Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів  
експериментальних тварин за введення сполук Ренію з адамантільними  
лігандами способом 1, n = 8 – 10**

| Експериментальні групи                       | Активність СОД,<br>МО на мг білку | Активність КАТ, Кат/л |
|----------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| 1                                            | 2                                 | 3                     |
| Контроль                                     | 7,81±0,39                         | 18,34±0,91            |
| Т8                                           | 6,71±0,34#                        | 7,55±0,38#            |
| Т8+cPt                                       | 22,76±1,14#*                      | 12,25±0,61#*          |
| Спосіб 1                                     |                                   |                       |
| Т8+[ $\text{Re}_{\text{trans-Ad}}$ ] nl      | 17,37±0,87*#                      | 14,35±0,7*#           |
| Т8+[ $\text{Re}_{\text{cis-Ad}}$ ] nl        | 36,68±1,83*#                      | 13,82±0,69*#          |
| Т8+[ $\text{Re}_{\text{NH}_2\text{Ad}}$ ] nl | 17,75±0,89*#                      | 20,39±1,02*#          |
| Т8+[ $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ ] nl          | 26,52±1,33*#                      | 23,16±1,16*#          |

#– $P < 0,05$  відносно контрольної групи,

\*–  $P < 0,05$ ; \*\*– $P < 0,01$ ; \*\*\*– $P < 0,001$  відносно групи Т8,

¥ – $P < 0,05$  відносно групи Т8+cPt

В групах  $T8+[Re_{trans-Ad}] nl$  та  $T8+[Re_{NH_2Ad}] nl$  активність СОД збільшено у середньому у 2,6 рази порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв, та в 2 рази порівняно з інтактними тваринами. Для груп  $T8+[Re_{cis-Ad}] nl$  та  $T8+[Re_{AcAd}] nl$  відмічається більш сильна активація ензиму, а саме у 5,5 та в 4 рази порівняно з Т8, та в 4,7 та 3,4 рази порівняно з контролем відповідно.

За введення дослідних сполук способом 2 виявлено збільшення активності ензиму порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв для всіх дослідних груп в середньому у 3,5 рази (Табл. 3.11).

Таблиця 3.11

**Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів експериментальних тварин за введення сполук Ренію з адамантильними лігандами способом 2, n = 8 – 10**

| Експериментальні групи       | Активність СОД, МО на мг білку  | Активність КАТ, Кат/л           |
|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Спосіб 2                     |                                 |                                 |
| $T8+cPt +[Re_{trans-Ad}] nl$ | $11,60 \pm 0,58^{*}\# \text{¥}$ | $19,01 \pm 0,95^{*}\text{¥}$    |
| $T8+cPt +[Re_{cis-Ad}] nl$   | $36,54 \pm 1,83^{*}\# \text{¥}$ | $19,33 \pm 0,96^{*}\text{¥}$    |
| $T8+cPt +[Re_{NH_2Ad}] nl$   | $43,07 \pm 2,15^{*}\# \text{¥}$ | $21,70 \pm 1,09^{*}\# \text{¥}$ |
| $T8+cPt +[Re_{AcAd}] nl$     | $44,75 \pm 2,24^{*}\# \text{¥}$ | $22,82 \pm 1,14^{*}\# \text{¥}$ |

#– $P < 0,05$  відносно контрольної групи,

\*–  $P < 0,05$ ; \*\*– $P < 0,01$ ; \*\*\*– $P < 0,001$  відносно групи Т8,

¥ – $P < 0,05$  відносно групи Т8+cPt

Так, в групі  $T8+cPt +[Re_{trans-Ad}] nl$  активність ферменту збільшено в 1,7 рази, в групі  $T8 + cPt + [Re_{cis-Ad}] nl$  в 3,7 рази, в групі  $T8+cPt +[Re_{NH_2Ad}] nl$  в 4,4 рази та в групі  $T8+cPt +[Re_{AcAd}] nl$  в 4,5 рази порівняно з групою Т8. До того ж, слід відмітити, що активність СОД збільшено у порівнянні з групою інтактних тварин. Порівняно ж з цисплатиновою групою (Т8+cPt) дослідні сполуки Ренію введені способом 2 проявили себе не однаково. Так, в групі

T8+cPt +[Re<sub>trans-Ad</sub>] nl активність СОД менша за групу T8+cPt на 49%, а в групах T8+cPt +[Re<sub>cis-Ad</sub>] nl, T8+cPt + [Re<sub>AcAd</sub>] nl, T8+cPt +[Re<sub>NH2Ad</sub>] nl більша на 60-96 %. Такий самий вплив дослідних сполук відмічено і в порівнянні зі сполуками Ренію з тетраізобутиратним лігандом введених способом 2.

Введення змішаних наноліпосом (спосіб 3) призвело до підвищення активності ферменту в усіх дослідних групах: порівняно з групою T8 в 4,6-6,2 рази; порівняно з групою інтактних тварин в 4-5,2 рази (Табл. 3.12).

Таблиця 3.12

**Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів експериментальних тварин за введення сполук Ренію з адамантильними лігандами способом 3, n = 8 – 10**

| Експериментальні групи                   | Активність СОД, МО на мг білку | Активність КАТ, Кат/л |
|------------------------------------------|--------------------------------|-----------------------|
| Спосіб 3                                 |                                |                       |
| T8+[Re <sub>trans-Ad</sub> +cPt(4:1)] nl | 40,89±2,04*#¥                  | 22,85±1,14*#¥         |
| T8+[Re <sub>cis-Ad</sub> +cPt(4:1)] nl   | 31,47±1,57*#¥                  | 22,46±1,12*#¥         |
| T8+[Re <sub>NH2Ad</sub> +cPt(4:1)] nl    | 31,77±1,59*#¥                  | 24,83±1,24*#¥         |
| T8+[Re <sub>AcAd</sub> +cPt(4:1)] nl     | 34,73±1,74*#¥                  | 22,13±1,11*#¥         |

#–P<0,05 відносно контрольної групи,

\*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–P<0,001 відносно групи T8,

¥ –P<0,05 відносно групи T8+cPt

А саме, в T8+[Re<sub>NH2Ad</sub> + cPt (4:1)] nl та T8+[Re<sub>cis-Ad</sub> + cPt (4:1)] nl активність СОД збільшено в 4,8 рази, в групі T8+[Re<sub>trans-Ad</sub> + cPt (4:1)] nl – в 6,2 рази, а в групі T8+[Re<sub>AcAd</sub>+cPt(4:1)] nl – в 5,2 рази порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв. В усіх дослідних групах відбувається збільшення активності СОД на 38-79 % порівняно з групою T8+cPt. Порівнюючи вплив кластарних сполук Ренію з адамантильними та тетраізобутиратними лігандами, ми бачимо, що активність СОД на 13-64 % більша за введення

дослідних сполук Ренію з адамантильними лігандами, введених у тих самих кількостях.

Введення сполук Re з адамантильними лігандами окремо (групи  $T8+[Re_{trans-Ad}] nl$ ,  $T8+[Re_{cis-Ad}] nl$ ,  $T8+[Re_{NH_2Ad}] nl$ ,  $T8+[Re_{AcAd}] nl$ ), показало підвищення активності каталази в порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв. Так, в середньому активність ферменту збільшено в 2 рази порівняно з T8. В групах  $T8+[Re_{AcAd}] nl$  та  $T8+[Re_{NH_2Ad}] nl$  активність каталази перевищує не тільки цей показник в групі T8 (в 3 рази), а і активність каталази в групі інтактних тварин (на 10-26 %). В групах, де вводили кластерні сполуки Ренію з адамантильними лігандами *цис*- та *транс*- конфігурації ( $T8+[Re_{trans-Ad}] nl$ ,  $T8+[Re_{cis-Ad}] nl$ ) активність каталази менша порівняно з групами, де використовували сполуки ренію з тетраізобутиратним лігандом на 17 %. В групах  $T8+[Re_{NH_2Ad}] nl$ ,  $T8+[Re_{AcAd}] nl$  активність каталази більша, ніж при введенні сполук Ренію з тетраізобутиратним лігандом на 21-37 %.

Активність ензиму при введенні сполук Ренію з адамантильними лігандами способом 2 також збільшена порівняно з групою T8 у середньому в 2,5 рази для груп  $T8+ cPt + [Re_{cis-Ad}] nl$  та  $T8+ cPt + [Re_{trans-Ad}] nl$  та в 3 рази для груп  $T8+ cPt + [Re_{AcAd}] nl$  та  $T8+ cPt + [Re_{NH_2Ad}] nl$ . Активність каталази в цих дослідних групах на 55-86 % більша ніж в групі  $T8+cPt$  та майже не відрізняється від груп, де вводили сполуки Ренію з тетраізобутиратним лігандом. При 3-му способі введення дослідних сполук Ренію активність каталази збільшено у середньому в 3 рази порівняно з щурами-пухлиноносіями для груп  $T8+[Re_{cis-Ad} + cPt (4:1)] nl$ ,  $T8+[Re_{trans-Ad} + cPt (4:1)] nl$ ,  $T8+[Re_{AcAd} + cPt (4:1)] nl$  та в 3,3 рази для групи  $T8+[Re_{NH_2Ad} + cPt (4:1)] nl$ . Крім того, і при другому і при третьому способах введення відбувається активація каталази, порівняно з інтактними тваринами в середньому на 13-25 %. При введення системи Реній-Платина з адамантильними лігандами способом 3 активність каталази більша на 67-87 %, ніж при введенні системи Реній-Платина з тетраізобутиратним лігандом.

Отже, вперше показано, що, на відміну від впливу кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами, введення кластерних сполук Ренію з адамантильними лігандами сприяє підвищенню активності каталази в еритроцитах щурів-пухлиноносіїв на 3-35 % у порівнянні з контролем [43].

Сполуки Ренію з адамантильними лігандами не відрізняються за своїми антиканцерогенними властивостями від сполук Ренію з алкільними лігандами [14]. Але на відміну від алкільних сполук Ренію, введення дослідних сполук Ренію призводить до сильнішої активації СОД. Сполуки Ренію *транс*-конфігурації виявилися менш ефективними, ніж сполуки Ренію *цис*-конфігурації. Це може бути пов'язане саме з просторовою структурою сполук Ренію і не відрізняється від результатів отриманих раніше [11].

Таким чином досліджено вплив способу введення наступних кластерних сполук Ренію з адамантильними лігандами: біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -адамантилкарбоксилатодиреній(III), транс-тетрахлориди- $\mu$ -адамантилкарбоксилатодиреній(III), біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -міноадамантилкарбоксилатодиреній(III) хлорид та біс-ацетонітрил-тетрахлориди- $\mu$ -ацетіламіноадамантилкарбоксилатодиреній(III) (у наноліпосомах і разом з цисплатином – система Реній-Платина) на інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів у моделі пухлинного росту. Встановлено зменшення вмісту ТБК-активних продуктів за введення всіх дослідних сполук щурам-пухлиноносіям незалежно від способу введення. Виявлено залежність інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та гальмування пухлинного росту від способу введення сполук Ренію. Найкращим виявився спосіб 2, де майже повністю гальмується пухлинний ріст (98 % гальмування) та виявлено зниження вмісту ТБК-активних продуктів у середньому в 6 разів.

Показано, що введення кластерних сполук Ренію з адамантильними лігандами щурам-пухлиноносіям, як і введення сполук з алкільними лігандами, призводить до збільшення активності СОД в 2,5-6,7 разів.

Введення біс-ацетонітрил-тетрахлориди- $\mu$ -ацетіламіноадамантилкарбоксилатодиреній(III) різними способами виявилось більш ефективним в пригніченні інтенсивності перекисного окиснення ліпідів ( в 5 разів порівняно з щурами-пухлиноносіями) ніж інші дослідні сполуки. Також для цієї групи виявлено збільшення активності супероксиддисмутази (у середньому в 3 рази) та активності каталази (у середньому на 20 %) еритроцитів за введення різними способами у порівнянні з контролем.

Отже,було вперше показано, що введення кластерних сполук Ренію з адамантильними лігандами поряд з гальмуванням росту пухлини і активацією СОД, призводить до підвищення активності каталази на 3-35 % у порівнянні з контрольною групою.

### **3.1.3 Вплив кластерних сполук Ренію з ферулатними та індольними лігандами і системи Реній-Платина на інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку карциноми Герена**

Було встановлено,що сполуки Ренію з ферулатними та індольними лігандами проявили себе як потужні антикацерогени. При введенні окремо цих сполук встановлено значне гальмування пухлинного росту і відмічається майже повне зникнення пухлини в дослідних групах (Табл. 3.13).

*Таблиця 3.13*

**Маса пухлини, індекс гальмування пухлини та концентрація ТБК-активних продуктів в еритроцитах експериментальних тварин за введення сполук Ренію з індольними і ферелатними лігандами, n = 8 – 10**

|          | Експериментальні групи | Маса пухлини, г | Гальмування, % до Т8 | Вміст ТБК, мкмоль/л |
|----------|------------------------|-----------------|----------------------|---------------------|
| 1        | 2                      | 3               | 4                    | 5                   |
| Спосіб 1 |                        |                 |                      |                     |

Продовження таблиці 3.13

| 1        | 2                                        | 3             | 4              | 5           |
|----------|------------------------------------------|---------------|----------------|-------------|
| 1        | T8+[Re <sub>Ferul</sub> ]nl              | 1,88±0,09***  | 97,02±4,85***¥ | 7,89±0,39** |
| 2        | T8+[Re <sub>Indol</sub> ]nl              | 1,76±0,09***  | 97,22±4,86***¥ | 7,71±0,39** |
| Спосіб 2 |                                          |               |                |             |
| 3        | T8+[Re <sub>Ferul</sub> ]nl+cPt          | 0,47±0,02***¥ | 99,25±4,96***¥ | 20,34±1,02* |
| 4        | T8+[Re <sub>Indol</sub> ]nl+cPt          | 0,28±0,01***¥ | 99,56±4,98***¥ | 22,12±1,11* |
| Спосіб 3 |                                          |               |                |             |
| 5        | T8+[Re <sub>Ferul</sub> +cPt(4:1)]<br>nl | 2,58±0,13***¥ | 95,92±4,8***¥  | 16,8±0,84*¥ |
| 6        | T8+[Re <sub>Indol</sub> +cPt(4:1)]<br>nl | 2,67±0,13***¥ | 95,78±4,73***¥ | 17,98±0,9*¥ |

#–P<0,05 відносно контрольної групи;

\*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–P<0,001 відносно групи T8;

¥–P<0,05 відносно групи T8+cPt

За введення дослідних сполук способом 1, ріст пухлини гальмується на 97 %, способом 2–на 99 %, а способом 3–на 95 %. Отже, незалежно від способу введення обидві дослідні сполуки проявили значний протипухлинний ефект.

Висока антиканцерогенна активність сполуки Re<sub>Ferul</sub> може бути пов'язана з такими суттєвими антиоксидантними властивостями цієї сполуки, що пояснюється наявністю ферулатних лігандів (Рис.3.3).

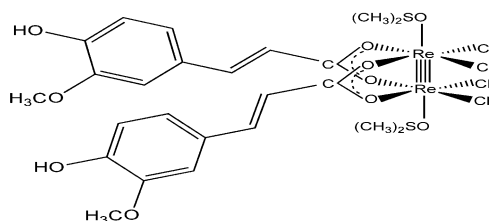


Рис. 3.3 Біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди-μ-ферулатодиреній(III) (Re<sub>Ferul</sub>)

Ферулова кислота відноситься до куркуміноїдів (1/2 молекули куркуміну), які мають власну антиканцерогенну активність завдяки здатності до регуляції NFκB сигнального шляху [81, 89, 191].

Інтенсивність ПОЛ при введенні дослідних сполук Ренію з індольним та ферулатним лігандами способом 1 (групи T8+[Re<sub>Ferul</sub>] nl, T8+[Re<sub>Indol</sub>] nl) зменшується у середньому у 7 разів порівняно з групою щурів пухлино носіїв (T8) та наближується до рівня вмісту ТБК-активних сполук в групі з інтактними щурами. Вміст ТБК-активних продуктів в цих групах знижено і по відношенню до груп, де вводили сполуки Ренію з адамантильними лігандами. Інші два способи виявилися не настільки ефективними, хоча і відмічається досить сильне зниження інтенсивності оксидативного стресу. Так, при другому способі введення кластерних сполук Ренію (T8+cPt+[Re<sub>Ferul</sub>] nl, T8+cPt+[Re<sub>Indol</sub>] nl) вміст ТБК-активних продуктів знижено у середньому в 2,5 рази та майже не відрізняється від групи T8+cPt. До того ж, він більший, ніж при використанні сполук Ренію з адамантильними лігандами. За введення способом 3 (групи T8+[Re<sub>Ferul</sub>+cPt(4:1)] nl, T8+[Re<sub>Indol</sub>+cPt(4:1)] nl) зниження інтенсивності оксидативного стресу досягало 3-кратної величини порівняно з групою T8 та на 17 % порівняно з групою щурів, яким вводили лише цисплатин (T8+cPt). Вміст ТБК-активних сполук в групах T8+[Re<sub>Ferul</sub>+cPt(4:1)] nl, T8+[Re<sub>Indol</sub>+cPt(4:1)] nl на 17-37 % більший, ніж в групах T8+[Re<sub>cis-Ad</sub>+cPt(4:1)] nl, T8+[Re<sub>AcAd</sub>+cPt(4:1)] nl та на 27-34 % менший, ніж в групах T8+[Re<sub>trans-Ad</sub>+cPt(4:1)] nl, T8+[Re<sub>NH2Ad</sub>+cPt(4:1)] nl.

Отже, сполуки Ренію з індольним та ферулатним лігандами проявили значний протипухлинний ефект та здатні до гасіння інтенсивності ПОЛ, як окремо так і у складі системи Реній-Платина.

Дослідження впливу сполук Ренію з ферулатним та індольним лігандами на активність СОД показало, що в дослідних групах спостерігається різке збільшення активності ферменту у порівнянні з контролем (Табл. 3.14)

Таблиця 3.14

**Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів  
експериментальних тварин за введення сполук Ренію з індольними і  
ферулатними лігандами, n = 8 – 10**

|          | Експериментальні<br>групи            | Активність СОД,<br>МО на мг білку | Активність КАТ,<br>Кат/л |
|----------|--------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| Спосіб 1 |                                      |                                   |                          |
| 1        | T8+[Re <sub>Ferul</sub> ]nl          | 39,20±1,96*                       | 19,09±0,96*              |
| 2        | T8+[Re <sub>Indol</sub> ]nl          | 33,52±1,68*                       | 19,84±0,99*              |
| Спосіб 2 |                                      |                                   |                          |
| 3        | T8+[Re <sub>Ferul</sub> ]nl+cPt      | 42,00±2,1*                        | 26,78±1,34*¥#            |
| 4        | T8+[Re <sub>Indol</sub> ]nl+cPt      | 57,41±2,87*                       | 26,25±1,31*¥#            |
| Спосіб 3 |                                      |                                   |                          |
| 5        | T8+[Re <sub>Ferul</sub> +cPt(4:1)]nl | 49,61±2,46*                       | 25,74±1,29*¥             |
| 6        | T8+[Re <sub>Indol</sub> +cPt(4:1)]nl | 63,24±3,16*                       | 27,76±1,39*¥             |

#–P<0,05 відносно контрольної групи;

\*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–P<0,001 відносно групи Т8;

¥–P<0,05 відносно групи Т8+cPt

За введення дослідних сполук способом 1 (групи T8+[Re<sub>Ferul</sub>]nl, T8+[Re<sub>Indol</sub>]nl) активність СОД зростає у середньому в 5,5 разів порівняно з пухлиноносіями (Т8). Введення сполук другим способом (групи T8+[Re<sub>Ferul</sub>]nl+cPt, T8+[Re<sub>Indol</sub>]nl+cPt) активує ензим у середньому у 7,5 разів. Найбільшу активність ферменту встановлено за введення кластерних сполук Ренію способом 3 (групи T8+[Re<sub>Ferul</sub>+cPt(4:1)]nl, T8+[Re<sub>Indol</sub>+cPt(4:1)]nl), а саме у середньому у 8,5 разів активність ферменту більша за групу Т8. Також активність СОД збільшено і порівняно з групою Т8 +cPt в 2-3 рази.

В групі T8+[Re<sub>Ferul</sub>]nl та T8+[Re<sub>Ferul</sub>]nl+cPt активність СОД збільшено у 5 разів порівняно з інтактними тваринами, в T8+[Re<sub>Indol</sub>]nl в 4 рази, в групі T8+[Re<sub>Indol</sub>]nl+cPt в 7 разів, в групах T8+[Re<sub>Ferul</sub>+cPt(4:1)]nl та T8+[Re

$\text{Indol}+\text{cPt}(4:1)]\text{nl}$  в 6 та 8 разів відповідно. Порівнюючи з попередніми дослідями введення сполук Ренію з індольним та ферулатним лігандами веде до активації СОД в 5 разів сильніше ніж при використанні сполук Ренію з алкільними лігандами.

Дослідні сполуки призводять до активації каталази порівняно з групою щурів–пухлино носіїв (Т8) не залежно від способу введення. При введенні кластерних сполук Ренію способом 1 активність ферменту зростає в 2,5 рази порівняно з групою Т8. При другому способі активність каталази збільшено у середньому у 3,5 рази порівняно з пухлиноносіями (група Т8), в 2 рази порівняно з групою щурів яким вводили  $\text{cPt}$  одноразово ( $\text{T8}+\text{cPt}$ ) та на 40 % порівняно з інтактними тваринами. Спосіб 3 введення сполук Ренію з індольними і ферулатними лігандами збільшив активність КАТ у середньому у 3,7 рази порівняно з Т8 та в 2,2 рази порівняно з групою  $\text{T8}+\text{cPt}$ .

Введення сполук Ренію способом 1 призводить до збільшення активності каталази на 26 % порівняно з групами  $\text{T8}+[\text{Re}_{\text{cis-Ad}}]\text{nl}$ ,  $\text{T8}+[\text{Re}_{\text{trans-Ad}}]\text{nl}$  та зменшення на 7-20 % порівняно з групами  $\text{T8}+[\text{Re}_{\text{NH}_2\text{Ad}}]\text{nl}$  та  $\text{T8}+[\text{Re}_{\text{AcAd}}]\text{nl}$ . Кластерні сполуки Ренію з індольними та ферулатними лігандами введенні способами 2 і 3 більше активують каталазу за розвитку карциноми Герена, ніж кластерні сполуки Ренію з адамантильними лігандами, а саме - на 16-39 % у другому способі введення та на 15-25 % у третьому способі введення.

Отже, сполуки Ренію з індольним та феруловим лігандами активують ферменти антиоксидантного захисту.

Введення сполуки  $\text{Re}$  з ферулатними лігандами в наноліпосомах окремо (спосіб 1) призвело до різкого збільшення активності ГП в 11 рази порівняно з групою щурів – пухлиноносіїв та в 5,5 разів у порівняно з контрольною групою (Рис. 3.4).

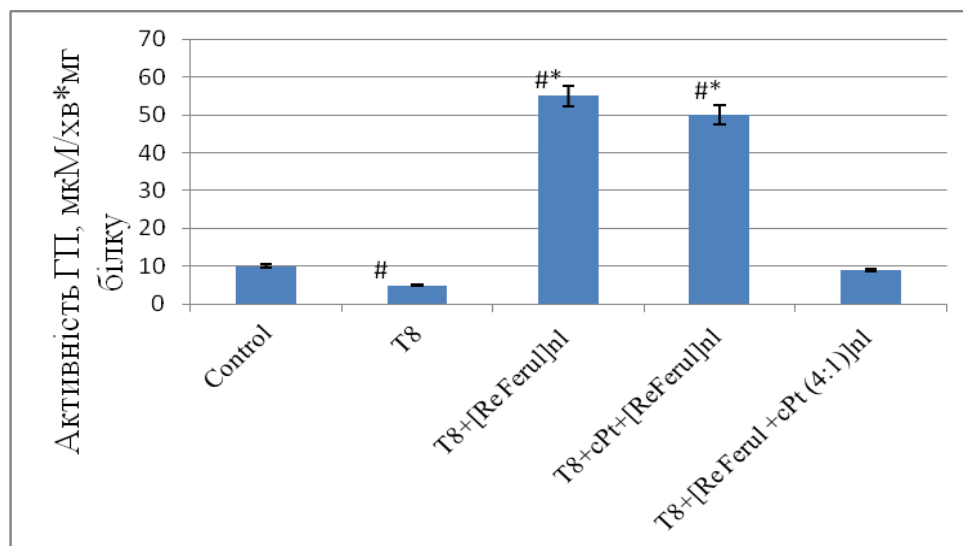


Рис. 3.4 Активність ГП щурів з карциномою Герена та під впливом сполуки Ренію з ферулатним лігандом, мкМ/хв\*на мг білку

#P<0,05 відносно контрольної групи, \*— P<0,05; \*\*—P<0,01; \*\*\*—P<0,001 відносно групи T8

У групі T8 +[Re<sub>Ferul</sub>]nl+cPt (другий спосіб введення) спостерігалось підвищення активності ферменту порівняно з контрольною групою та групою T8 в 5 та 10 разів відповідно .

У групі T8+[Re<sub>Ferul</sub> +cPt (4:1)]nl (спосіб введення 3) відбулося незначне зниження активації ГП у порівняно з контролем на 16 %, та підвищення в 1,8 разів з групою щурів – пухлиноносіїв.

Отже, активність ГП залежить від способу введення системи Re-Pt. В усіх експериментальних групах активність ферменту була вища за групу T8. Введення змішаних наноліпосом наближало показники активності до рівня контрольних значень, а при введенні сполуки Re окремо та разом з cPt активність ГП була вища за контроль в рази.

Отже, введення таких сполук, як біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди-μ-ферулатодиреній(III) та біс-ацетонітрил-цис-тетрахлороди-μ-індолилацетатодиреній(III) виявилось досить ефективними при всіх способах введення за всіма дослідними показниками. Тобто, спостерігається майже повне гальмування пухлинного росту (на 97 %) сполуками Ренію.

Встановлено суттєве зниження вмісту ТБК-активних продуктів, особливо при введенні біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -ферулатодиреній(III) та біс-ацетонітрил-цис-тетрахлориди- $\mu$ -індолилацетатодиреній(III) способом 1, де спостерігається наближення показника до рівня здорових тварин.

Встановлено активацію ферментів антиоксидантного захисту. Особливо це стосується супероксиддисмутази, активність якої збільшується в середньому в 7 разів порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв. Активність каталази при введенні біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -ферулатодиреній(III) та біс-ацетонітрил-цис-тетрахлориди- $\mu$ -індолилацетатодиреній(III) збільшується до 3,5 разів, порівняно з контрольною групою.

Таким чином, показано вплив природи органічних лігандів, розташованих в *цис*-положенні навколо кластерного фрагмента диренію(III), на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів, а саме: наявність адамантильних, індольних і ферулатних залишків сприяє збільшенню активності каталази еритроцитів щурів-пухлиноносіїв до 1,5 разів у порівнянні з контролем на відміну від впливу сполук Ренію(III) з алкільними лігандами, введення яких призводить до зниження активності каталази.

Знайдено, що введення біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -ферулатодиренію(III) у різних формах окремо та разом з цисплатином призводило до активації глутатіонпероксидази еритроцитів щурів-пухлиноносіїв в 5-12 разів у порівнянні з контролем, на відміну від введення інших ренієвих сполук, що може свідчити про особливий вплив цієї сполуки на систему глутатіонового захисту та пояснити частково її ефективні антиканцерогенні властивості.

### 3.2 Активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена та введення цитостатиків

Як відмічено у літературному огляді, злоякісний ріст як звичайної, так і резистентної до цисплатину карциноми Герена, призводить до зростання інтенсивності процесів ПОЛ в еритроцитах, проте, за розвитку резистентного штаму зростання інтенсивності ПОЛ відбувається менше (в 2,4 рази), ніж звичайного (в 6,9 рази), у порівнянні з контролем. Цікавим було дослідити, як працює система антиоксидантного захисту еритроцитів за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена та порівняти з даними за розвитку звичайної пухлини [3].

Виявилося, що активність СОД в еритроцитах щурів за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена була вище у 5 разів порівняно з контрольною групою (Табл. 3.15).

Таблиця 3.15

#### Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів експериментальних тварин за введення сполук Ренію з тетраізобутиратним та ферулатним лігандами

| № | Експериментальні групи                       | Активність СОД,<br>МО на мг білку | Активність<br>КАТ, Кат/л |
|---|----------------------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|
| 1 | 2                                            | 3                                 | 4                        |
| 1 | Контроль                                     | 7,81±1,39                         | 18,34±0,91               |
| 2 | T8                                           | 6,71±0,34                         | 7,55±0,38                |
| 3 | T8p                                          | 39,06±1,95#                       | 25,67±1,28#              |
| 4 | T8p+[cPt]sl                                  | 50,78±2,53#*                      | 29,32±1,07#*             |
| 5 | T8p+[cPt]nl                                  | 41,01±2,05#*                      | 35,83±5,14#*             |
| 6 | T8p+[ Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)]nl | 74,45±3,72*¥                      | 77,59±3,88*¥             |
| 7 | T8p+[ Re <sub>tetraisobut</sub> +cPt(4:1)]np | 50,77±2,54*¥                      | 74,6±3,73*¥              |
| 8 | T8p+[Re <sub>Ferul</sub> +cPt(4:1)]nl        | 76,45±4,56*¥                      | 79,18±4,08*¥             |

Продовження таблиці 3.15

| 1 | 2                                     | 3            | 4            |
|---|---------------------------------------|--------------|--------------|
| 9 | T8p+[Re <sub>Ferul</sub> +cPt(4:1)]np | 84,26±4,78*¥ | 82,59±4,82*¥ |

#–P<0,05 відносно контрольної групи,

\*– P<0,05; \*\*–P<0,01; \*\*\*–P<0,001 відносно групи T8p,

¥–P<0,05 відносно групи T8p+[cPt]nl

При цьому відбувається також підвищення активності каталази (на 40 %) у порівнянні з контролем. Слід відмітити, що для розвитку звичайної карциноми відмічалось зниження активності СОД на 14 %, а каталази у 2,5 рази (Розділ 3, Глава 3.1.1, Табл. 3.2). Така різниця у роботі основних антиоксидантних ферментів еритроцитів за розвитку двох штамів не відмічалася, проте, у наших експериментах ми спостерігали подібну відмінність у тканині печінки [7].

Слід підкреслити, що розвиток звичайної та резистентної карциноми Герена по-різному впливає на активність каталази [42]. Для звичайної карциноми характерне пригнічення активності ензиму, а для резистентної, навпаки, активація порівняно з контрольною групою.

Отже, вперше показано, що на відміну від звичайної карциноми Герена, за розвитку резистентної карциноми, в еритроцитах щурів відбувається активація ферментів антиоксидантного захисту, а саме СОД і каталази.

Введення розчину cPt (група T8p+[cPt]sl ) призводило до підвищення активності СОД на 30 % і каталази на 14 % порівняно з групою T8p, а за розвитку звичайної карциноми Герена відбувається підвищення активності СОД у 3,4 рази та активності каталази у 1,6 рази порівняно з групою T8.

За введення cPt в наноліпосомах (група T8p+[cPt] nl) щурам з резистентною до цисплатину карциномою Герена значення показника активності СОД не перевищувало значень групи резистентних пухлиноносіїв (група T8p). Активність каталази в групі T8p+[cPt] nl підвищена на 40 % порівняно з групою T8p. Розвиток звичайної карциноми супроводжується

підвищенням активності СОД еритроцитів за введення [cPt]nl у 3,9 разів порівняно з групою Т8 і активності каталази у 2,1 рази. Але активність каталази в цій групі, на відміну від активності СОД, не перевищує значення контролю.

Отже, введення цисплатину у ліпосомній формі практично не впливає на активність СОД у еритроцитах щурів з резистентною карциномою і значно активує цей фермент в еритроцитах пухлиноносіїв із звичайною карциномою Герена. А активність каталази збільшується у еритроцитах щурів з резистентною карциномою Герена на відміну від еритроцитів щурів із звичайною карциномою, де активність каталази більша за групу Т8, але не перевищує контрольну групу.

Введення системи Реній-Платина зі сполукою Ренію з тетраізобутиратними і ферулатними лігандами у формі наноліпосом і наночасток (групи  $T8p+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]nl$ ,  $T8p+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]np$ ,  $T8p+[Re_{Ferul}+cPt(4:1)]nl$ ,  $T8p+[Re_{Ferul}+cPt(4:1)]np$ ) призводить до підвищення активності СОД на 23-104 % і каталази у 2 – 2,3 рази у порівнянні з групою  $T8p+[cPt]nl$ , де цисплатин вводився у таких самих кількостях і формах. Таке підвищення СОД для звичайної карциноми спостерігалось у діапазоні 2 – 89 %, а для каталази 2 – 61 %.

Отже, нами вперше показаний різний відгук антиоксидантної системи захисту еритроцитів щурів від супероксид-аніону і пероксиду водню на введення цитостатиків за розвитку звичайної і резистентної карциноми, який полягає у різній ступені активації СОД (більшій у звичайній карциномі) і у протилежно спрямованому впливі на активність каталази – у групах щурів із звичайною карциномою каталаза інгібується, а з резистентною – активується.

Порівнюючи значення СОД і каталази у групах, де вводилася система Реній-Платина зі сполуками Ренію з різними органічними лігандами, а саме з тетраізобутиратними та ферулатними, можна відмітити що для тетраізобутиратних груп ( $T8p+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]nl$ ,  $T8p+[Re_{tetraisobut}$

+cPt(4:1)] np) активація цих ензимів складає 23 – 81 % для СОД і 106 – 116 % для каталази, а для ферулатних (T8p+[Re<sub>Ferul</sub>+cPt(4:1)]nl, T8p+[Re<sub>Ferul</sub>+cPt(4:1)] np) 86 – 105 % для СОД і 121 – 130 % для каталази у порівнянні з групою T8p+[cPt]nl. Тобто, для сполук з ферулатними лігандами відмічається більш інтенсивна активація цих ферментів.

Як і в еритроцитах щурів зі звичайною карциномою (Розділ 3, Глава 3.1.2, Рис 3.2), активність глутатіонпероксидази за розвитку резистентної карциноми знижується у порівнянні з контрольною групою. Це зниження складає 38 % (Рис. 3.5).

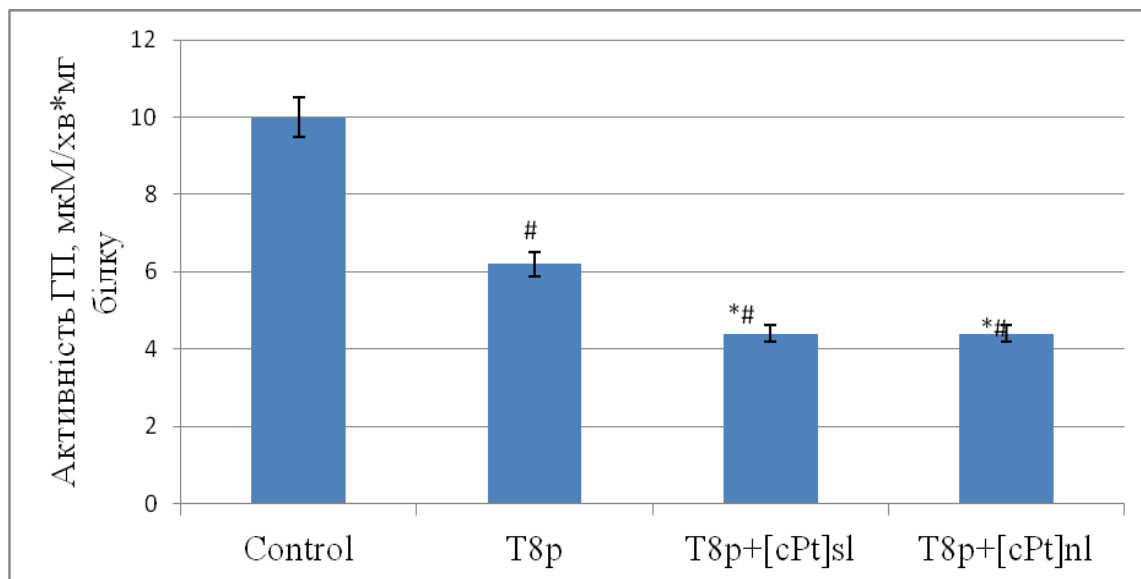


Рис. 3.5 Активність ГП в еритроцитах щурів з резистентною до цисплатину карциномою Герена за введення цисплатину

# -  $P < 0,05$  відносно контрольної групи,

\* –  $P < 0,05$ ; \*\* -  $P < 0,01$ ; \*\*\* -  $P < 0,001$  відносно групи T8p

Тобто, на відміну від СОД і каталази, глутатіонпероксидаза не активується за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена.

Активність ГП за розвитку резистентної карциноми Герена на 16 % більша ніж при розвитку звичайної карциноми Герена.

Введення цисплатину у обох досліджуваних формах знижувало активність ферменту на 29 % порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв. Отже,

на активність ГП не впливає форма введення цитостатика: як розчина (група T8p+[cPt]sl), так і наноліпосомна форма цисплатину (група T8p+[cPt]nl) однаково знижують активність ензиму. Значення активності ГП за введення цисплатину у різних формах не відрізняється від значень, отриманих у дослідженні розвитку звичайної карциноми Герена.

За введення системи Re-Pt активність ГП знижується у всіх дослідних групах: у групах T8p+cPt+[Re<sub>tetrasobut</sub>] nl та T8p+[Re<sub>tetrasobut</sub> +cPt (4:1)] nl - на 34 %, а у групі T8p+[Re<sub>tetrasobut</sub> +cPt (4:1)] np – на 50 % порівняно з групою пухлиноносіїв (Рис. 3.6).

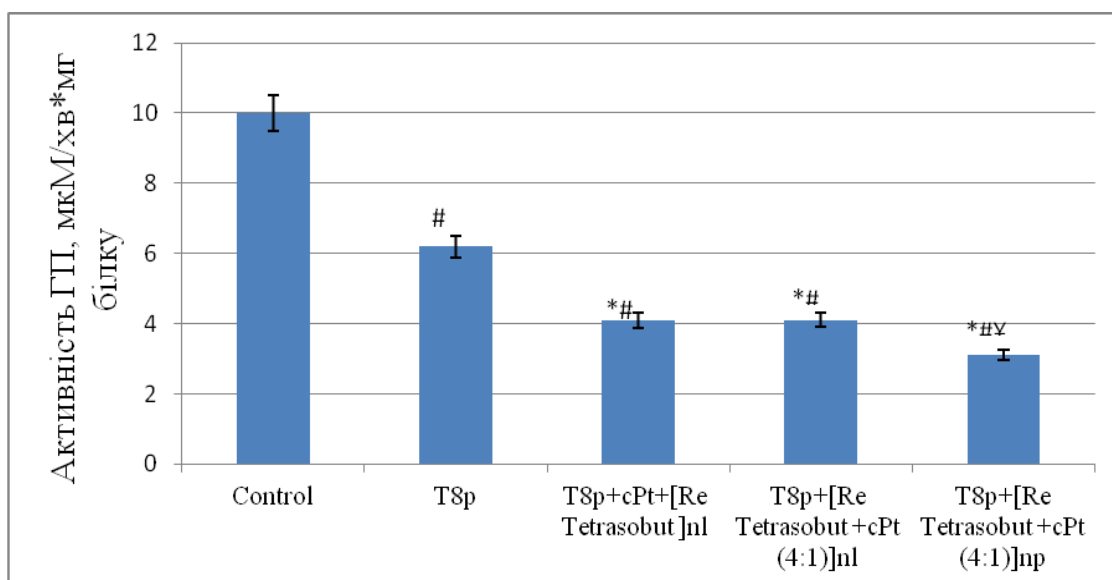


Рис. 3.6 Активність ГП в еритроцитах шурів з резистентною до цисплатину карциномою Герена за введення системи Реній-Платина зі сполуками Ренію з тетраізобутиратними лігандами

#– $P < 0,05$  відносно контрольної групи,

\*–  $P < 0,05$ ; \*\*– $P < 0,01$ ; \*\*\*– $P < 0,001$  відносно групи T8p,

¥– $P < 0,05$  відносно групи T8p+[cPt]nl

Активність ферменту при введенні наноліпосомних форм сполук Ренію (групи T8p+cPt+[Re<sub>tetrasobut</sub>]nl та T8p+[Re<sub>tetrasobut</sub> +cPt (4:1)]nl) практично не відрізняється від обох цисплатинових груп (T8p+[cPt]nl, T8p+[cPt]sl). В свою чергу введення твердих наночасток (група T8p+[Re<sub>tetrasobut</sub> +cPt (4:1)]np)

зменшує активність ГП на 20 % порівняно з групами T8p+[cPt]sl та T8p+[cPt]nl.

Якщо порівнювати вплив дослідних сполук на активність ГП за розвитку різних штамів карциноми Герена, можна побачити, що ензим більше активується за розвитку звичайної карциноми Герена ( Розділ 3, Глава 3.1.1), ніж за розвитку резистентної до цисплатину карциноми.

На відміну від груп, де вводили кластерні сполуки Ренію з тетраізобутиратним лігандом, сполуки Ренію з ферулатним лігандом сприяють підвищенню активності ГП не тільки порівняно з групою T8p, але і з контролем (Рис. 3.7).

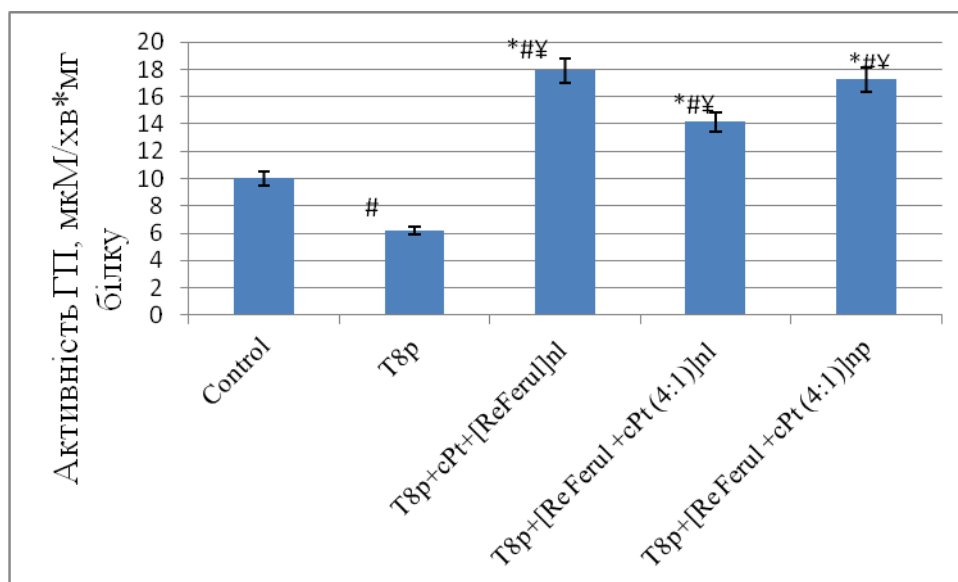


Рис. 3.7 Активність ГП в еритроцитах щурів з резистентною до цисплатину карциномою Герена за введення системи Реній-Платина зі сполуками Ренію з ферулатними лігандами

#– $P < 0,05$  відносно контрольної групи,

\*–  $P < 0,05$ ; \*\*– $P < 0,01$ ; \*\*\*– $P < 0,001$  відносно групи T8p,

¥– $P < 0,05$  відносно групи T8p+[cPt]nl

Введення T8p+cPt+[Re Ferul]nl підвищує активність ензиму в 1,7 рази, T8p+[Re Ferul +cPt (4:1)]nl – в 1,4 рази , T8p+[Re Ferul +cPt (4:1)]np–в 1,7 рази порівняно з контролем. Тобто, незалежно від форми введення досліджених

сполук, активність ГП збільшується за введення сполук Ренію з ферулатними лігандами майже у двічі порівняно з контролем та у 3,5-4,5 рази порівняно з групами, де вводили цисплатин (T8p+[cPt] nl, T8p+[cPt] sl). Слід зауважити, що за розвитку обох типів карциноми Герена при використанні кластерних сполук Ренію з ферулатними лігандами відбувається активація ГП. Такий несподіваний вплив саме сполук Ренію з ферулатними лігандами потребує додаткового дослідження впливу цієї сполуки на систему глутатіонового захисту еритроцитів.

Отже, виявлено, що за розвитку T8p активність антиоксидантних ензимів у крові щурів підвищується (СОД у 5 рази, КАТ на 40 %), а активність ГП зменшується у 1,6 рази порівняно з контрольною групою. Натомість, розвиток звичайної карциноми Герена (T8) призводить до зниження активності СОД, КАТ та ГП на 14 %, 60 % та 51 % відповідно. Таким чином, ензиматична активність АОС крові щурів-пухлиноносіїв за розвитку T8p і T8 працює по-різному: в групах щурів з T8 вона пригнічується, а у T8p, навпаки, активується. Вірогідно, така різна активація АОС робить певний внесок у феномен резистентності. У разі використання цитостатиків, якими є цисплатин, кластерні сполуки Ренію і система Реній-Платина, нами знайдено 6-10-кратне зростання активності СОД в крові щурів порівняно з контролем, а порівняно з групою щурів-пухлиноносіїв на 30-90 %. Рівень підвищення активності СОД не залежить від способу введення системи Реній-Платина.

Введення системи Re-Pt у змішаних наноструктурах призводить до збільшення активності каталази у 3 рази у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв, при окремому введенні компонентів системи активність каталази, навпаки, знижується на 41 % порівняно з групою T8p. При введенні системи Re-Pt активність ГП знижувалась на 33-47 %, порівняно з групою T8p. Отже, введення системи Re-Pt призводить до активації антиоксидантної системи, тим самим знижуючи оксидативний стрес, при розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена.

Також, досліджено вплив такої сполуки, як біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -ферулатодиреній(III) (у наноліпосомах, твердих наночастках і разом з цисплатиною – система Реній-Платина) на активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів у моделі пухлинного росту резистентної до цисплатину карциноми Герена. Виявлено збільшення активності супероксиддисмутази (в середньому у 5 разів), глутатіонпероксидази (в середньому у 2 рази) та каталази (в середньому у 4 рази) еритроцитів за введення ферулової кислоти біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди- $\mu$ -ферулатодиренію(III) різними способами у порівнянні з контролем.

Вперше виявлено залежність впливу структури лігандів навколо кластерного фрагменту Реній-Реній на регуляцію оксидативного стресу в еритроциті, яка стосується різного ступеню активації ферментів антиоксидантного захисту проти супероксидного аніон-радикалу і гідроген пероксиду та, особливо, системи глутатіонового захисту червонокривців.

Вперше показано, що розвиток резистентної до цисплатину карциноми Герена супроводжується підвищенням активності супероксиддисмутази еритроцитів до 5 разів та каталази еритроцитів до 40 % у порівнянні з еритроцитами контрольних тварин на відміну від еритроцитів щурів із звичайною карциномою Герена, де активність цих ферментів гальмується, що може здійснювати певний внесок у феномен резистентності.

Показано різний відгук системи антиоксидантного захисту еритроцитів пухлиноносіїв із звичайною і резистентною карциномою Герена на введення цитостатиків, який полягає у різному ступені активації супероксиддисмутази і каталази і досягає більше десятикратного рівня у порівнянні з контролем за введення системи Реній-Платина на основі ренієвих сполук з адамантильними, індолілоцтовими і ферулатними лігандами.

### **3.3 Вплив кластерних сполук Ренію на активність нативної каталази**

Оскільки у попередніх розділах нами було представлено дані про підвищення активності каталази за введення кластерних сполук Ренію(III) у моделі розвитку пухлин, а як було зазначено в літературному огляді, деякі сполуки Ренію мали СОД-активність і впливали на структуру активного центру ферменту, даний розділ ми присвятили дослідженню каталазної активності цих сполук, а також взаємодії кластерних сполук Ренію з іншим ферментом антиоксидантного захисту, а саме нативною каталазою. У Таблиці 3.16. наведено дані щодо каталазної активності  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ .

Таблиця 3.16

**Каталазна активність  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ , у % до активності каталази**

| Концентрація сполуки,<br>М | Каталазна активність            |                           |
|----------------------------|---------------------------------|---------------------------|
|                            | $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ | $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ |
| $1 \cdot 10^{-6}$ М        | 15,12 $\pm$ 0,75                | 6,9 $\pm$ 0,34            |
| $2 \cdot 10^{-6}$ М        | 36,63 $\pm$ 1,83                | 9,31 $\pm$ 0,43           |
| $3 \cdot 10^{-6}$ М        | 39,53 $\pm$ 1,98                | 24,14 $\pm$ 1,21          |
| $4 \cdot 10^{-6}$ М        | 16,57 $\pm$ 0,81                | 12,76 $\pm$ 0,64          |
| $5 \cdot 10^{-6}$ М        | 14,53 $\pm$ 0,73                | 6,20 $\pm$ 0,31           |
| $1 \cdot 10^{-5}$ М        | 38,15 $\pm$ 1,91                | 27,34 $\pm$ 1,37          |

Виходячи з отриманих даних, очевидно, що  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  мають каталазну активність, яка досягає практично 40 % у порівнянні з нативною каталазою. Важливо відмітити, що збільшення концентрації  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  не призводить безпосередньо до прискорення реакції, тобто, залежність швидкості реакції від концентрації субстрату не має прямо пропорційного характеру. Це свідчить про те, що взаємодія кластерних сполук Ренію(III) з гідроген пероксидом не є реакцією першого порядку, або, рівняння, приведенного в Розділі 1, Главі 1.4, не повністю віддзеркалює механізм взаємодії сполук Ренію(III) з гідроген пероксидом.

Якщо порівняти отримані нами дані з даними каталазної активності найбільш ефективного каталазо-біоміметика, а саме наночасток Церію [143], який знешкоджував гідроген пероксид протягом 10 хв з 1,8  $\mu\text{M}$  до 1,45  $\mu\text{M}$  (тобто має 19,5 % каталазну активність), то кластерні сполуки Ренію(III) перевищують ці сполуки на 20 %.

Отже, кластерні сполуки Ренію(III) мають власну активність щодо розкладання гідроген пероксиду, що перевищує відомі біоміметики на основі сполук Церію.

Чисельні дослідження взаємодії металорганічних сполук з білками і дослідження взаємодії кластерних сполук Ренію(III) різної конфігурації нашої наукової групи свідчать про те, що комплекс білок – металорганічна сполука відбувається через взаємодію з гістидиновими (His) залишками білка [13, 16]. Отже, за утворення суміші каталаза +  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ ,  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  з послідовним вимірюванням каталазної активності ми отримали змінені активності тих комплексів, що утворилися у розчині за змішування нативної каталази и сполук Ренію(III) (Табл. 3.17).

Таблиця 3.17

**Каталазна активність комплексів каталаза–  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$  і каталаза-  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  у різних молярних співвідношеннях, у % до активності нативного ферменту у концентрації  $10^{-6} \text{ M}$**

| Молярне співвідношення каталаза : сполука Ренію | Активність комплексів, %                   |                                      |
|-------------------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------|
|                                                 | каталаза – $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ | каталаза – $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ |
| 1                                               | 2                                          | 3                                    |
| 1 : 1                                           | 321,78 $\pm$ 16,08                         | 251,27 $\pm$ 12,56                   |
| 1 : 2                                           | 277,55 $\pm$ 13,88                         | 323,71 $\pm$ 16,19                   |
| 1 : 3                                           | 200,63 $\pm$ 10,03                         | 256,40 $\pm$ 12,82                   |
| 1 : 4                                           | 228,20 $\pm$ 11,41                         | 344,86 $\pm$ 17,24                   |

Продовження таблиці 3.17

| 1      | 2            | 3            |
|--------|--------------|--------------|
| 1 : 5  | 325,63±16,28 | 386,53±19,32 |
| 1 : 10 | 346,80±17,33 | 389,45±19,47 |

Проте, не очікуваним був факт прискорення реакції знешкодження гідроген пероксиду практично від 2,28 до 3,89 разів. Тобто, приєднання кластерних сполук Ренію(III) до Нis залишків каталази призводило до активації роботи ферменту. Можна було б говорити про адитивну дію каталази і  $\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$ ,  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ , але, ми не спостерігаємо адитивності ( $100 + 40 = 140 \%$ ), отже мова йде про синергічну дію каталази і кластерних сполук Ренію(III), яка включає невідомий механізм знешкодження гідроген пероксиду.

Прямолінійна концентраційна залежність також не спостерігається у цьому експерименті. Це свідчить про складний механізм взаємодії  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  з білковою глобулою. Адже молекула каталази є тетрамером. Приєднання однієї молекули  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  до одного протомера може викликати, наприклад, кооперативний ефект, тобто зміна конформації однієї глобули через контактну поверхню може викликати зміну конформації інших глобул, що приведе до активації активного центру і значного прискорення реакції, як в епімері гемоглобіну; і навпаки, до інактивації всього епімеру.

Для з'ясування деяких аспектів взаємодії кластерних сполук Ренію(III) з нативним білком ми провели спектральні дослідження і порівняли з даними спектральних досліджень процесу денатурації каталази за зміною рН розчину [54]. Спектр нативної каталази у області поглинання білкових ароматичних кислот представлений на Рис. 3.8.

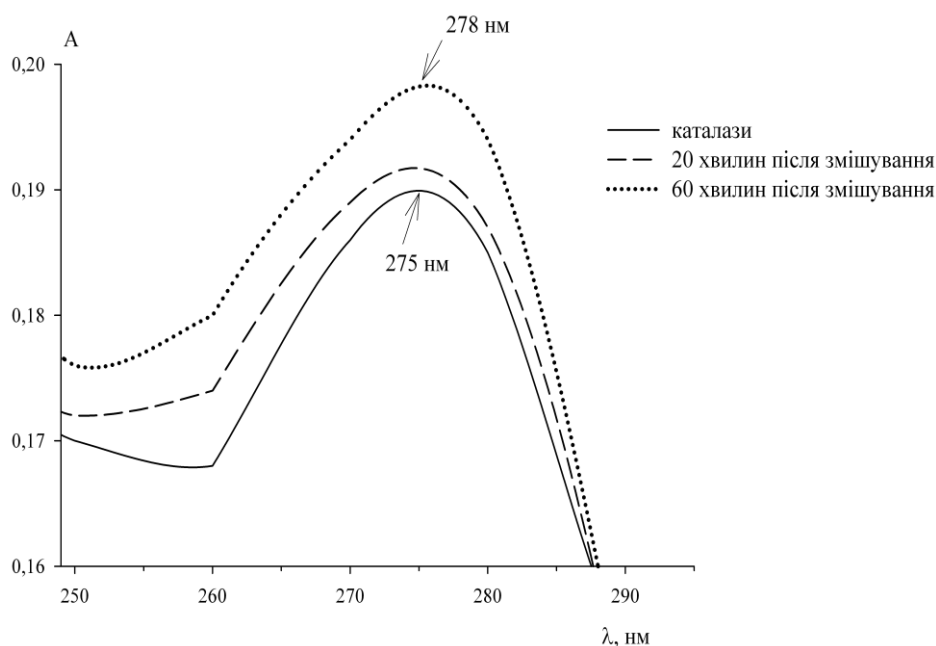


Рис. 3.8 Електронний спектр поглинання каталази та суміші каталази і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$

Зміни, які спостерігаються у цій області під дією різноманітних факторів, відповідають перебудові білкової глобули за участі ароматичних амінокислот [28]. Інтенсивність поглинання у цій області є мірою вмісту  $\alpha$ -конформації у поліпептидному ланцюзі і віддзеркалює вплив денатуруючих факторів: порушення впорядкованості поліпептидного ланцюгу викликає зниження інтенсивності поглинання. У нашому експерименті ми спостерігаємо збільшення інтенсивності поглинання і невеликий зсув максимуму з 275 нм до 278 нм, у довгохвильову область поглинання. Це свідчить про утворення нового комплексу каталаза –  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  із більш впорядкованою конформацією. Тобто, приєднання  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  до His залишків не тільки не порушує впорядкованості білкової глобули, але сприяє її зміцненню, тобто впорядкованості. Така зміна конформації білкових глобул тетрамерної каталази відбивається на підвищенні її каталітичної активності.

Область поглинання каталази у регіоні 340 – 420 нм відповідає поглинання гемінових груп, або залізо-порфіринових центрів, так звана смуга Core (Soret band) (Рис. 3.9).

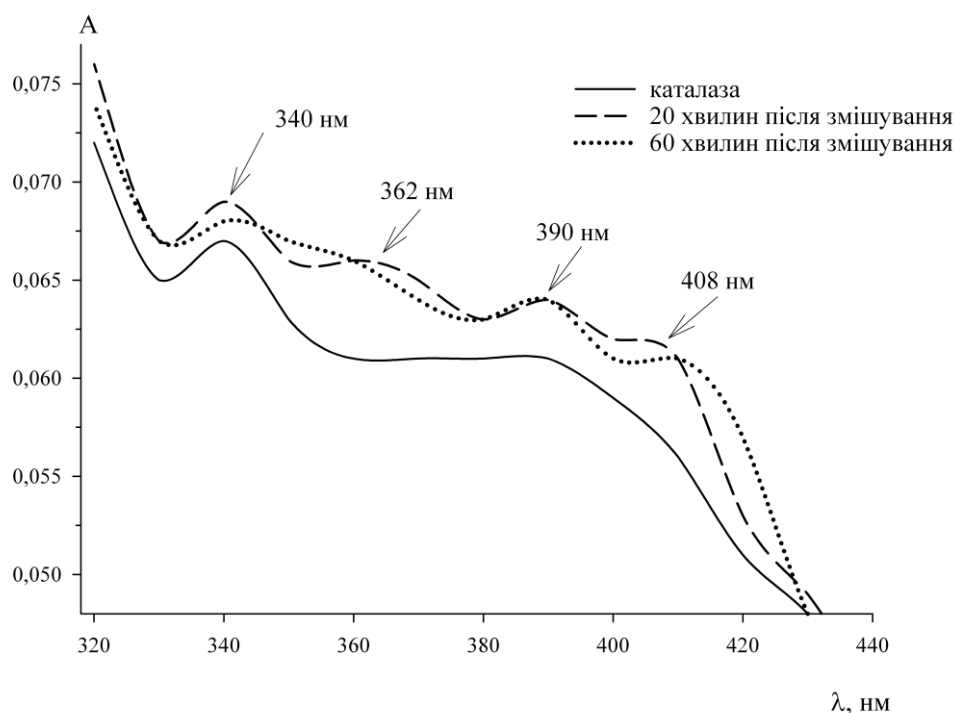


Рис. 3.9 Електронний спектр поглинання каталази та суміші каталази і  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$

Приєднання  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$  здійснює підвищення інтенсивності поглинання у цій області і утворення нових максимумів поглинання при 340, 362, 390, 408 нм, що підтверджує раніше зроблений висновок про утворення комплексу каталази з  $\text{Re}_{\text{AcAd}}$ . Якщо при порушенні активного гемо-вмісного комплексу спостерігали зниження інтенсивності поглинання у полосі  $\text{Core}$ , то підвищення інтенсивності поглинання у цій полосі в наших експериментах свідчить про збільшення  $\pi$ - кон'югації порфіринових кілець у активному центрі ферменту і про формування активного центру з більшою електронною густиною  $\pi$ - кон'югованого гему.

Відповідно до відомого механізму роботи каталази, гідроген пероксид у процесі потрапляння до активного центру ферменту, повинен зв'язуватися з деякими амінокислотними залишками, зокрема, з  $\text{His}^{74}$  [76, 127]. Вірогідно, що кластерні сполуки Ренію(III) взаємодіють з амінокислотними залишками, наприклад, з  $\text{His}^{74}$ , з утворенням комплексу, що полегшує фіксацію і подальшу хімічну реакцію у активному центрі. Активація каталази сполуками Ренію може мати більш складний механізм.

Отримані нами дані вказують на перспективність подальших досліджень каталазної активності інших представників структурних типів кластерних сполук Ренію(III), оскільки, як показано у наших роботах, дикарбоксилати володіють антиоксидантними властивостями менш вираженими, ніж тетракарбоксилати, трикарбоксилати і т.і. Також актуальним напрямком подальших досліджень є з'ясування механізму активації каталази, оскільки з т.з. медичної практики явище активації нативних ферментів організму може бути важливішим, ніж величина власної каталазної активності біоміметика.

Таким чином показано, що кластерні сполуки Ренію(III) дикарбоксидлатного структурного типу мають каталазну активність, яка перевищує таку для відомих біоміметиків на основі Церію [2]. Кластерні сполуки Ренію(III) взаємодіють з нативним білком каталазою, що відбивається на спектральних характеристиках і призводить до значного підвищення (у 2,5 - рази) каталазної активності. Подальші дослідження механізмів каталазної активності кластерних сполук Ренію(III) і взаємодії з білками перспективні в плані створення біоміметиків з антиоксидантною дією.

*Цис*-дикарбоксилати диренію(III) мають власну каталазну активність, яка досягає 40% у порівнянні з нативною каталазою, що може бути платформою для створення біоміметиків ферментів антиоксидантного захисту.

Каталаза і кластерні сполуки Ренію(III) утворюють комплекс, який здійснює розклад гідроген пероксиду ефективніше у 2-4 рази, ніж нативна каталаза, що може бути пояснено приєднанням ренієвої сполуки до молекули ферменту без порушення конформації глобули апоферменту і структури залізо-порфіринового активного центру.

### Висновки до розділу 3

В даному розділі проводились експериментальні дослідження впливу кластерних сполук Ренію з органічними лігандами на інтенсивність оксидативного стресу та активності ферментів антиоксидантного захисту за розвитку звичайної та резистентної карциноми Герена.

Встановлено зменшення вмісту ТБК-активних продуктів плазми за введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) щурам-пухлиноносіям незалежно від способу та інтенсивності гальмування пухлини.

Показано ефективність зниження (до чотирьох разів) інтенсивності перекисного окиснення ліпідів за введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III), що значно перевищує ефективність відомих антиоксидантів.

Виявлено збільшення активності супероксиддисмутази (у середньому на 16 %) та зменшення активності каталази (у середньому на 20 %) еритроцитів за введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) різними способами у порівнянні з контролем.

Відбувається зменшення вмісту ТБК-активних продуктів за введення сполук Ренію з адамантильними лігандами щурам-пухлиноносіям незалежно від способу введення. Виявлено залежність інтенсивності перекисного окиснення ліпідів та гальмування пухлинного росту від способу введення сполук Ренію. Найкращим виявився спосіб 2, де майже повністю гальмується пухлинний ріст (98 % гальмування) та виявлено зниження вмісту ТБК-активних продуктів у середньому в 6 разів.

Показано, що введення кластерних сполук Ренію з адамантильними лігандами щурам-пухлиноносіям, як і введення сполук з алкільними лігандами, призводить до збільшення активності СОД в 2,5-6,7 разів.

Сполуки Ренію з індольним та ферулатним лігандами проявили значний протипухлинний ефект та здатні до гасіння інтенсивності ПОЛ, як окремо так і у складі системи Реній-Платина та активують ферменти

антиоксидантного захисту. Активність ГП залежить від способу введення системи Re-Pt з ферулатним лігандом. В усіх експериментальних групах активність ферменту була вища за групу T8. Введення змішаних наноліпосом наближало показники активності до рівня контрольних значень, а при введенні сполуки Re окремо та разом з cPt активність ГП була вища за контроль в рази.

Вперше показано різний процес функціонування ферментативної системи антиоксидантного захисту в крові щурів-пухлиноносіїв за розвитку звичайної та резистентної до цисплатину карциноми Герена та різний її відгук на введення цитостатиків

Виявлено що кластерні сполуки Ренію(III) дикарбоксилатного структурного типу мають власну каталазну активність, яка перевищує таку для відомих біоміметиків на основі Церію. Кластерні сполуки Ренію(III) взаємодіють з нативною каталазою що призводить до підвищення (у 2,5 рази) каталазної активності.

Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях  
Результати досліджень даного розділу наведено в таких публікаціях [2, 3, 13, 31, 32, 42, 43, 115, 156].

## РОЗДІЛ 4

## ЗАКЛЮЧЕННЯ

У першій частині роботи нами показано, що незалежно від форми введення сполуки Ренію тетракарбоксилатного типу (наноліпосоми, тверді наночастки, змішані ліпосоми, змішані тверді наночастки) окремо і разом з цисплатином окрім антиканцерогенної дії спостерігається зменшення концентрації ТБК-активних продуктів (на 41-83 %) в плазмі крові, що свідчить про здатність сполук Ренію гальмувати процес ПОЛ у щурів-пухлиноносіїв. Така здатність була показана для усіх кластерних сполук Ренію, що вивчалися [13, 15, 156]. Ми пояснюємо такі властивості наявністю почверного зв'язку у складі кластерних сполук Ренію, про який йшлося у літературному огляді і який працює пасткою радикалів за схемою (Рис. 4.1).

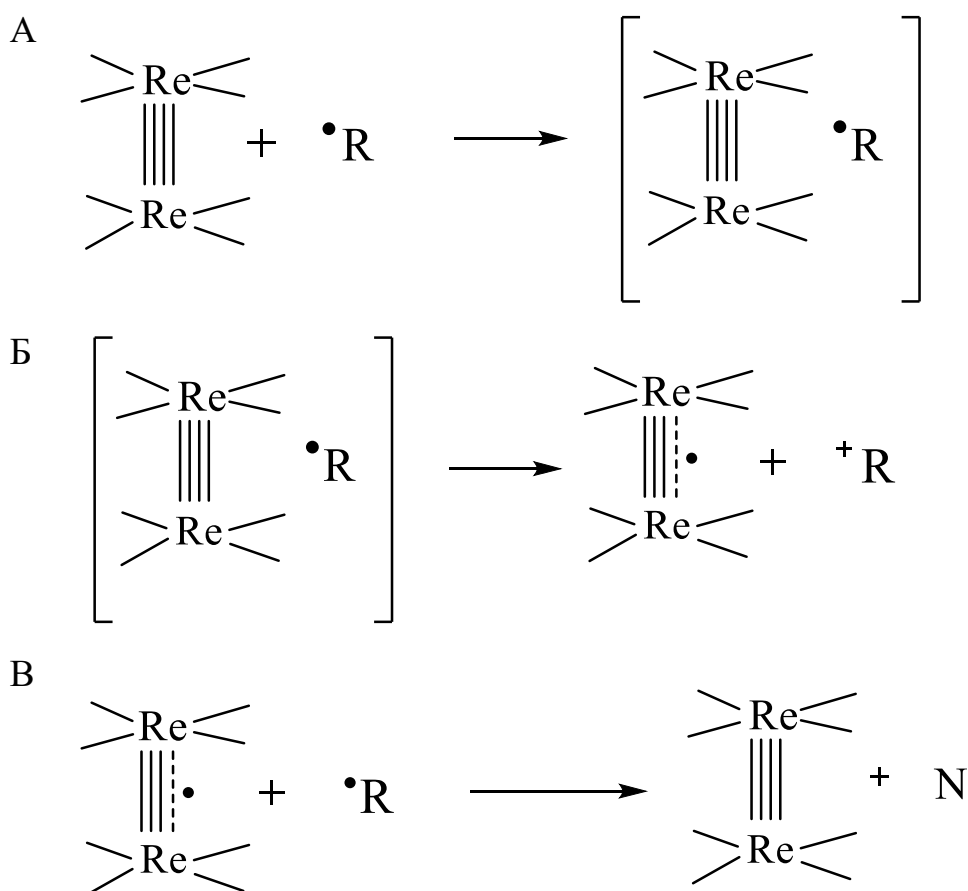


Рис. 4.1 Схема роботи почверного зв'язку як пастки для радикалів [160]

Спочатку відбувається координація радикалу до кластерного  $\text{Re}_2^{6+}$  фрагменту (А); потім утворюється  $\text{Re}_2^{5+}$  комплекса з порядком кратного зв'язку 3,5 і видаляється катіон (В); приєднання іще одного радикалу призводить до утворення нейтрального продукту N і вихідної молекули ренієвої сполуки з почверним зв'язком, тобто, до закінчення типового каталітичного процесу. Роль лігандів, розташованих навколо почверного зв'язку може виявлятися у стабілізації, або дестабілізації перехідних комплексів, показаних на стадіях А, Б и В. Адамантильні, індольні і ферулатні ліганди відносяться до замісників з позитивним індукційним і мезомерним електронними ефектами, тобто, вони збільшують електронну густину на кратних зв'язках перехідних комплексів і дещо дестабілізують їх. Цим можна було б пояснити меншу здатність кластерних сполук Ренію з біологічними лігандами до гальмування процесу ПОЛ у порівнянні з такою здатністю сполук з алкільними лігандами, які мають менший електронний ефект такого ж напрямку. Проте, у цій анти радикальній реакції ми не спостерігаємо вплив будови ліганду на ефективність процесу взаємодії кластерної сполуки з радикалом, де почварний зв'язок відіграє вирішальне значення.

У наших експериментах ми спостерігали збільшення активності супероксиддисмутази в еритроцитах щурів-пухлиноносіїв під впливом введення цитостатиків у порівнянні з групою пухлиноносіїв Т8 і з групою пухлиноносіїв, де вводили цисплатин Т8 + сPt [33, 35, 41]. Особливо таке підвищення ми спостерігали за введення кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами [43, 44]. Також, ми спостерігали на одному з прикладів, що для *транс*-дикарбоксилату характерна менша активація ферменту. Так, за введення сполук Ренію (різними способами) в *транс*-конфігурації активність СОД нижча, ніж за введення таких самих кластерних сполук Ренію в *цис* – конфігурації [156].

Відомо, що метаболізм радикалів в еритроциті є дуже складним [135]. Окрім ендogenous джерела активних сполук Оксигену, які інтенсивно

утворюються в процесі ауто-окиснення оксигемоглобіна в метгемоглобін, еритроцити підлягають оксидативному тиску плазми – гідроген пероксид, нітроген монооксид, супероксид-аніон-радикал і інші транспортуються вільно через мембрану, або через іонні канали. До того ж, еритроцит є спеціалізованою клітиною, яка продукується кістковим мозком, клітиною без ядра і мітохондрій, де неможливий синтез біомолекул *de novo*. Вплив будь-якої речовини на радикальний обмін еритроциту буде включати вплив на систему кровотворення кісткового мозку, стан системи антиоксидантного захисту інших органів, транспортні системи організму, швидкість постачання Оксигену і багато інших процесів. Тому еритроцит і є діагностичною клітиною, що віддзеркалює стан всього організму, з одного боку, але з іншого боку, молекулярні процеси активації або дезактивації АОС цієї клітини *in vivo* практично не вивчені саме внаслідок складності процесу. Як зазначено у літературному огляді, відомі тільки деякі аспекти дезактивації ферментів АОС еритроциту, а процеси активації зовсім не вивчено, наприклад, вплив відомого цитостатика цисплатину на активність еритроцитарної Cu,Zn СОД. Тому в своїй роботі ми обмежуємося порівнянням впливу саме кластерних сполук Ренію на активність ферментів антиоксидантного захисту.

У попередніх роботах [13] різницю у СОД-активності цис- і транс-дикарбоксилатов диренію(III), яку ми спостерігаємо і в нашій роботі, ми пояснювали таким чином: сполуки транс-дикарбоксилатного типу є дуже реакційно-здатними і реагують з вільним штучним радикалом за 30 – 39 секунд. Реакція з супероксид-аніоном можлива згідно Рис. 4.2.

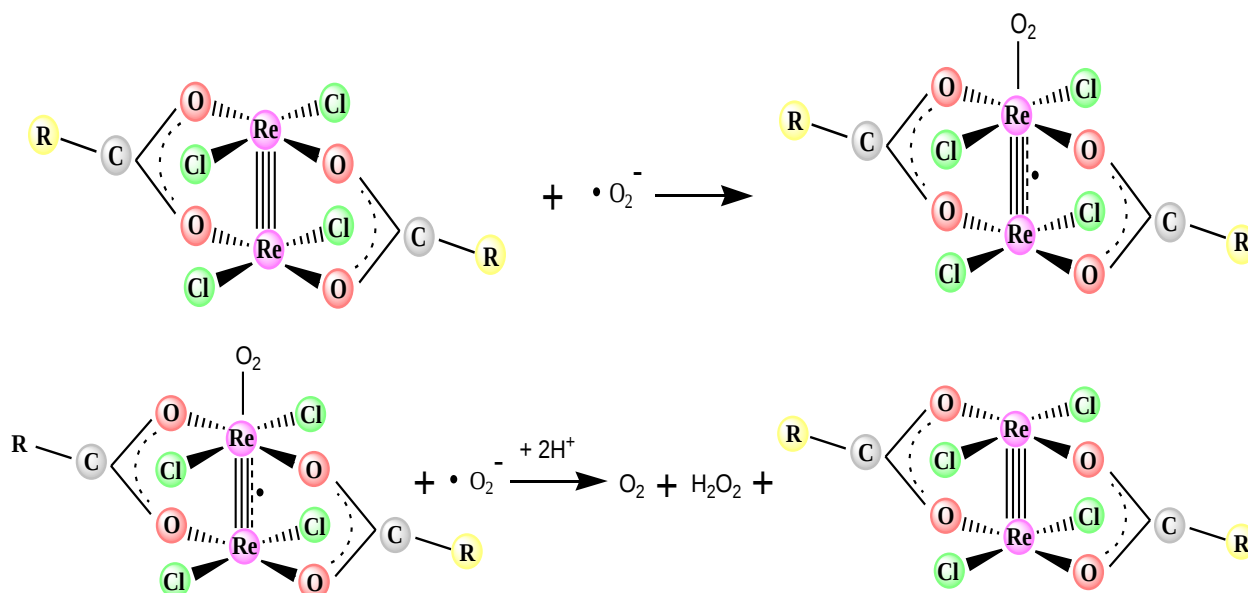


Рис. 4.2 Схема реакції *транс*-дикарбоксилатів з супероксид-аніоном

Координація вільного радикалу відбувається у вільне аксіальне положення. Потім після утворення нестійкого і дуже реакційно-здатного радикалу відбувається його взаємодія з наступним радикалом. Оскільки *транс*-дикарбоксилати є унікальними швидкими пастками для радикалів, то, на нашу думку, відбувається невібіркова реакція з будь-яким компонентом ксантин-оксидазної реакції, який утворюється раніше супероксид-аніону.

Для *цис*-дикарбоксилатів, які реагують зі штучним радикалом 24-26 годин, внаслідок наявності аксіального замісника, потрібна іще одна, додаткова у порівнянні з *транс*-дикарбоксилатами реакція (Рис. 4.3).

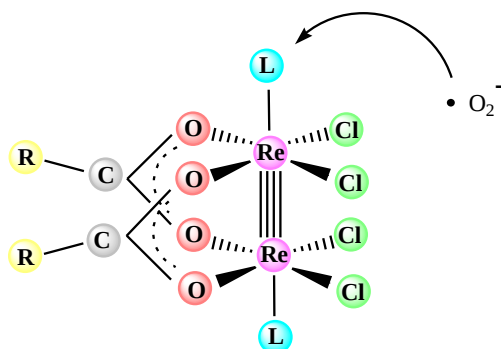


Рис. 4.3 Схема першої реакції *цис*-дикарбоксилатів з супероксид-аніоном

Ця реакція – це реакція заміщення аксіального замісника. Далі процес відбувається за тією ж послідовністю, що і для *транс*-дикарбоксилатів. Ми вважаємо, що наявність саме цієї додаткової стадії обумовлює те, що *цис*-дикарбоксилати відносяться до помірних за швидкістю радикальних пасток. Саме така помірність у вивчаємій оксидативній реакції дає можливість вловити супероксид-аніон на перших стадіях реакції. Біологічно активні ліганди такі як адамантильні, індоліл- і феруліл-, напевне, іще більше уповільнюють цей процес завдяки збільшенню електронної густини у перехідних радикальних станах, показаних на Рисунку 4.2. Таким чином, не дивлячись на те, що ми не вивчали СОД-активність кластерних сполук Ренію з біологічними лігандами, на нашу думку, ми маємо можливість пояснити значну активацію СОД-активності щурів-пухлиноносіїв в еритроцитах щурів-пухлиноносіїв за введення цих сполук частково їхньою можливою значною СОД-активністю. Також можлива активація молекули СОД у процесі взаємодії молекули фермента зі сполукою Ренію, що ми не вивчали, але що було показано нами на прикладі молекули КАТ.

Значна активність ферментів антиоксидантного захисту в еритроцитах щурів з резистентною карциномою у порівнянні з розвитком чутливої до цисплатину, або звичайною карциномою, показана нами вперше, свідчить про те, що розвиток резистентного до цитостатику новоутворення включає мобілізацію кровотворної системи, яка продукує червонокривці з потужною АОС. Таке явище є дуже важливою складовою «захисної системи новоутворення» і потребує додаткових досліджень.

У таблиці 4.1 узагальнено дані щодо активності антиоксидантних ферментів еритроцитів щурів-пухлиноносіїв із звичайною і резистентною пухлиною за введення цитостатиків, що ми досліджували.

Таблиця 4.1

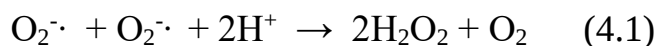
**Збільшення (↑) або зменшення (↓) активності антиоксидантних ферментів еритроцитів щурів-пухлиноносіїв за введення цитостатиків у порівнянні з контролем, у %**

| Звичайна<br>пухлина    | T8                                                               | T8+cPt      | T8+[ Re +cPt(4:1)]nl |              |
|------------------------|------------------------------------------------------------------|-------------|----------------------|--------------|
|                        |                                                                  |             | Re tetraisob         | Re Ferul     |
| СОД                    | $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$ |             |                      |              |
|                        | ↓ 14,23 ± 0,36                                                   | ↑ 191±9,55  | ↑ 218±10,90          | ↑ 535±26,75  |
| КАТ                    | $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$                                |             |                      |              |
|                        | ↓ 59±2,95                                                        | ↓ 33±1,65   | ↓ 28±1,40            | ↑ 40±2,00    |
| ГП                     | $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$                         |             |                      |              |
|                        | ↓ 50±2,50                                                        | ↓ 52±2,60   | ↓ 4±0,2              | ↓ 10±0,5.    |
| Резистентна<br>пухлина | T8p                                                              | T8p+cPt     | T8+[ Re +cPt(4:1)]nl |              |
|                        |                                                                  |             | Re tetraisob         | Re Ferul     |
| СОД                    | $O_2^{\cdot -} + O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow 2H_2O_2 + O_2$ |             |                      |              |
|                        | ↑ 400±20                                                         | ↑ 425±21,25 | ↑ 853±42,65          | ↑ 879±±43,95 |
| КАТ                    | $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$                                |             |                      |              |
|                        | ↑ 40±2                                                           | ↑ 95±4,75   | ↑ 323±16,15          | ↑ 331±16,55  |
| ГП                     | $H_2O_2 + 2GSH \rightarrow GSSG + 2H_2O$                         |             |                      |              |
|                        | ↓ 38±1,9                                                         | ↓ 56±2,8    | ↓ 5,9±0,3            | ↑ 42±2,1     |

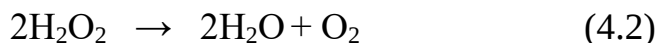
Збільшена активність КАТ у еритроцитах щурів з резистентною карциномою може бути пояснена як потужною АОС, про що йшлося вище, так і впливом сполук Ренію, що активують фермент значніше, оскільки у цих клітинах процес ПОЛ, а відповідно концентрація активних радикалів, набагато менш інтенсивні.

Значна активація ГП сполукою Ренію з ферулатними лігандами може бути пояснена таким чином [11]: супероксид-аніон-радикал  $O_2^{\cdot -}$  (активна

форма оксигену) бере участь у оксидативному стресі, що активно перетворюється супероксиддисмутазою у пероксид водню та воду:



Пероксид водню розщеплюється каталазою:



або глутатіонпероксидазою



Тобто, в клітинах еритроцитів існує 2 шляхи для знешкодження пероксиду водню. Вірогідно, сполука  $\text{Re}_{\text{Ferul}}$  взаємодіє з радикалами за типом супероксиддисмутазної, каталазної реакції (4.1), (4.2), або й раніше, з супероксиданіоном. Внаслідок цього реакція (4.3) гальмується субстратно – відсутністю пероксиду водню і глутатіон може здійснювати більш ефективну детоксикацію cPt, утворюючи кон'югат:



Як зазначалося вище, регуляція процесу радикальних реакцій у клітині червонокрівців є мультифакторним явищем, але наявність каталазної активності у сполук Ренію і їхня здатність до взаємодії з молекулою фермента з наступним підвищенням активності КАТ *in vitro*, показані нами, робить значний внесок у можливість регуляції оксидативного стресу організму пухлиноносіїв нетоксичними сполуками [2]. Поєднання функцій почверного зв'язку як пастки для радикалів і варіація структурою лігандів, розташованих навколо кластерного центру, є платформою для створення потужних біоміметиків – антиоксидантів, які одночасно можуть бути важливими складовим протиракової терапії.

#### Висновки до розділу 4

В даному розділі узагальнено данні, які приводилися в розділах 1. Регуляція оксидативного стресу еритроцитів щурів-пухлиноносіїв за

введення протипухлинної системи реній-платина (літературний огляд);

2. Матеріали та методи; 3. Результати та обговорення.

Матеріали цього розділу наведено в таких публікаціях [2, 13, 33, 41, 43, 156].

## ВИСНОВКИ

Вперше досліджено антиоксидантну активність кластерних сполук Ренію(III) з адамантильними, індолілоцтовими, і ферулатними лігандами за різних форм введення та їхню каталазну активність і взаємодію із нативною каталазою.

1. Вперше показано, що незалежно від форми введення дихлоротетра- $\mu$ -ізобутиратодиренію(III) (наноліпосоми, тверді наночастки, змішані ліпосоми, змішані тверді наночастки) окремо і разом з цисплатином, його вплив, поряд із антиканцерогенною дією, сприяє зменшенню інтенсивності оксидативного стресу (на 41-83 %) та збільшенню активності супероксиддисмутази (на 130-270 %) у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв.

2. Показано вплив природи органічних лігандів, розташованих в цис-положенні навколо кластерного фрагмента диренію(III), на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів, а саме: наявність адамантильних, індольних і ферулатних залишків сприяє збільшенню активності каталази еритроцитів щурів-пухлиноносіїв до 1,5 рази у порівнянні з контролем на відміну від впливу сполук Ренію(III) з алкільними лігандами, введення яких призводить до зниження активності каталази.

3. Знайдено що введення біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлороди- $\mu$ -ферулатодиренію(III) у різних формах окремо та разом з цисплатином призводило до активації глутатіонпероксидази еритроцитів щурів-пухлиноносіїв у 5-5,5 разів у порівнянні з контролем, на відміну від введення інших ренієвих сполук, що може свідчити про особливий вплив цієї сполуки на систему глутатіонового захисту та пояснити частково її ефективні антиканцерогенні властивості.

4. Вперше показано, що розвиток резистентної до цисплатину карциноми Герена супроводжується підвищенням активності супероксиддисмутази (у 5 разів) та каталази (на 40 %) еритроцитів у порівнянні з еритроцитами контрольних тварин на відміну від еритроцитів щурів із звичайною

карциномою Герена, де активність цих ферментів гальмується, що може здійснювати певний внесок у феномен резистентності.

5. Показано різний відгук системи антиоксидантного захисту еритроцитів щурів-пухлиноносіїв із звичайною і резистентною карциномою Герена на введення цитостатиків, який полягає у різному ступені активації ферментів антиоксидантного захисту.

6. Цис-дикарбоксилати диренію(III) мають власну каталазну активність, яка досягає 40 % у порівнянні з нативною каталазою, що може бути платформою для створення біоміметиків – ферментів антиоксидантного захисту.

7. Каталаза і кластерні сполуки Ренію(III) утворюють комплекс, який здійснює розклад гідроген пероксиду ефективніше у 2-4 рази, ніж нативна каталаза, що може бути пояснено приєднанням ренієвої сполуки до молекули ферменту без порушення конформації глобули апоферменту і структури залізо-порфіринового активного центру.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андреева Л. И., Кожемякин Л. А., Кишкун А. А. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой // Лаб. дело. 1988. Т 2. С. 41–43.
2. Величко О. В., Штеменко Н. І., Шамелашвілі К. Л., Штеменко О. В. Каталазна активність деяких кластерних сполук диренію(III) // Вопросы химии и химической технологии. 2017. Т. 3 (112). С. 4-9.
3. Грабовська О. І., Скорик О. Д., Шамелашвілі К. Л., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Біохімічні характеристики крові щурів з резистентною карциномою Герена за введення протипухлинної системи Реній-Платина // Вісник проблем біології та медицини. 2017. Вип. 1 (135). С. 124-131.
4. 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. С. 42-46.
5. Голиченко А. А., Штеменко А. В. Синтез и свойства кластерных соединений рения(III) с адамантанкарбоновыми кислотами // Координационная химия. 2006. № 4. С. 252–260.
6. Зозуля Ю. А., Барабой В. А., Сутковой Д. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. Москва: Знание, 2000. 344 с.
7. Коновалова О. С., Бабі С. О., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Вплив системи Реній - Платина на біохімічні параметри печінки щурів - пухлиноносців // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія «Біологія». 2016. Вип. 27. С. 11–18.
8. Королюк М. Л. Иванова И. Г. и др. Метод определения активности каталазы // Лаб дело. 1988. Т. 1. С. 16-18.
9. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на

- реакции окисления кверцетина // Вопросы мед химии. 1990. Т. 2. С. 88-90.
10. Кулик Г. И., Пивнюк В. М., Носко М. М. Липосомальные препараты: путь к преодолению лекарственной устойчивости к цисплатину // Онкология. 2009. № 1. С. 76-80.
  11. Кулініч О. С., Дьомшена О. О., Штеменко Н. І. Модуляція гепатотоксичності цисплатину кластерними сполуками Ренію(III) у моделі канцерогенезу // Медична хімія. 2013. Т. 15, № 3. С. 21–27.
  12. Лакин Г. Ф. Биометрия. Москва: Высшая школа, 1990. 350 с.
  13. Леус І. В., Шамелашвілі К. Л., Скорик О. Д., Третьак С. Ю., Голіченко О. А., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена // Укр. біохім. журн. 2012. Т. 84, № 3. С. 87-96.
  14. Леус І. В. Активність супероксиддисмутази та інтенсивність оксидативного стресу при застосуванні кластерних сполук ренію з алкільними лігандами як протипухлинних засобів : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.04. "Биохимия". Київ, 2012. 21 с.
  15. Леус І. В., Скорик О. Д., Безцінна Н. В., Штеменко Н. І. Вплив структури ліганду на протипухлинні та антиоксидантні властивості кластерних сполук ренію // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. 2009. Т. 3, Вип. 17. С. 46–53.
  16. Леус І. В., Кленіна І. А., Заболоцька К. А., Голіченко О. А., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Взаємодія сироваткових альбумінів з кластерними сполуками ренію цис- і транс-конфігурації // Біополімери та клітина. 2011. Т. 27, № 6. С. 465-471.
  17. Леус І. В., Шамелашвілі К. Л., Скорик О. Д., Ніколенко О. І., Штеменко Н. І. Цитостабілізуючі властивості кластерних сполук ренію

- як інгібіторів перекисного окиснення ліпідів у процесі зберігання // Вісник ДНУ. Біологія. Медицина. 2011. Т. 2, Вип. 2, С. 56-62.
18. Леус І. В., Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І. Цитостабілізуючі властивості кластерних сполук ренію // Сучасні проблеми природничих наук : матеріали VI всеукраїнської студентської наукової конференції, 5-6 квітня 2011р. Ніжин, 2011. С. 78.
  19. Леус І. В., Ніколенко О. І., Шамелашвілі К. Л., Скорик О. Д., Штеменко Н. І. Вплив алкільних цис-дикарбоксилатів диренію на антиоксидантну систему у щурів при розвитку новоутворення // Молодь і поступ біології : VIII міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів , 3-6 квітня 2012 р. тези доп. Львів, 2012. С. 60-61.
  20. Музиченко М. М., Жабіцька О. Д. (Скорик О. Д.), Тихомиров А. О., Штеменко Н. І. Концентрація ТБК-активних продуктів у плазмі крові щурів при розвитку та гальмуванні росту карциноми Герена // Вісник Дніпропетровського університету. 2006. Т. 2, № 3. С. 117-121.
  21. Овсяннікова Л. М. Методи оцінки вільнорадикального окиснення та стану антиоксидантної системи організму у клінічній практиці // Київ: Вища школа., 2007. 24 с.
  22. Орлова М. В., Леус І. В., Шамелашвілі К. Л., Горіла М. В., Штеменко Н. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту при введенні системи реній-платина у щурів з карциномою Герена // Сучасні проблеми природничих наук : матеріали VIII всеукраїнської студентської наукової конференції, 17-18 квітня 2013р. Ніжин, 2013. С. 69.
  23. Орлова М. В. Шамелашвілі К. Л., Горіла М. В., Штеменко Н. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту щурів за умов введення системи реній - платина зі звичайною та резистентною до цисплатину карциномою герена // III Міжнародний форум студентів, аспірантів і молодих учених, 23-24 квітня 2015 р. : тези доп. Дніпропетровськ, 2015. С. 437-439.

24. Поліщук Л. В. Ганусевич І. І., Мацелюх Б. П. Вивчення протипухлинної дії антибіотиків, що продукуються *STREPTOMYCES GLOBISPORUS* 1912 на моделі карциноми Герена у щурів // Мікробіол журн. 1996. Т. 58. С. 55-58.
25. Румянцева С. А. Комплексная антиоксидантная терапия реамбирином у больных с критическими состояниями неврологического генеза // Международный медицинский журнал. 2002. № 2. С. 129-137.
26. Семенов С. С., Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І. Зміни активності антиоксидантних ферментів крові в моделі пухлинного росту // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : матеріали І міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів та молодих учених, Т. 2, 23-26 лютого 2009 р. Донецьк, 2009. С. 61.
27. Скорик О. Д. Интенсивность оксидативного стресса и состав свободных аминокислот крови при торможении роста карциномы Герена соединениями рения. : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. біол. наук : спец. 03.00.04. "Биохимия". Київ, 2009. 20 с.
28. Тарадина Г. В., Доценко О. И. Олигомерные интермедиаты каталазы в растворе при действии низкочастотной вибрации // Проблемы екології та охорони природи техногенного регіону. 2011. Т. 11, №1. С. 323-329.
29. Тимофеевский А. Д. Модели и методы экспериментальной онкологии Москва: Медгиз, 1960. 268 с.
30. Чевари С., Андял Т., Штрэнгер Я. Определение антиоксидантных параметров крови и их диагностическое значение в пожилом возрасте // Лаб. дело. 1991. Т. 10. С. 9 –13.
31. Шамелашвілі К. Л., Семенов С. С., Чугуз О. О., Лоскутова Т. О., Штеменко Н. І. Стан коагуляційного гемостазу при канцерогенезі та застосуванні системи реній-платина у наноформах // Вісник ДНУ. Біологія. Медицина. 2011. Т. 2, Вип. 2. С. 110-116.
32. Шамелашвили К. Л., Леус И. В., Скорик Е. Д., Николенко Е. И. Интенсивность оксидативного стресса при торможении опухолевого

- роста соединениями рения // Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования : материалы международной научно-практической конференции. Ч. 1, 31 марта – 1 апреля 2011 р. Курск, 2011. С. 238-242.
33. Шамелашвілі К. Л., Леус І. В., Скорик Е. Д., Штеменко Н. І. Оксидативний стрес та його корекція сполуками ренію при канцерогенезі // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : матеріали II міжнародної наукової конференції студентів,аспірантів та молодих учених, 19-22 вересня 2011р. Донецьк, 2011. С. 122.
  34. Шамелашвілі К. Л., Леус І. В., Штеменко Н. І. Вплив сполук ренію на антиоксидантну систему щурів при розвитку карциноми Герена // Шевченківська весна 2012 : X міжнародна конференція студентів та молодих науковців, 19-23 березня 2012 р. : тези доп. Київ, 2012. С. 331.
  35. Шамелашвілі К. Л., Леус І. В., Жабитська О. Д., Штеменко Н. І. Ферменти антиоксидантного захисту у моделі пухлинного росту // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології української міжнародної конференції, 30-31 жовтня 2008 р., : тези доп. Дніпропетровськ, 2008. С. 73-А.
  36. Шамелашвілі К. Л., Лоскутова Т. О., Штеменко Н. І. Корреляция показателей системы гемостаза с маркерами перекисного окисления липидов у беременных с преэклампсией // Вісник Харківського національного університету імені В. Н.Каразіна. Серія: біологія. 2013. Вип. 17, № 1056. С. 196-201.
  37. Шамелашвили К. Л., Скорик О. Д., Ніколенко О. І., Кононова Г. С. Вплив сполук ренію з ацетофосфатним лігандом на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та ріст пухлини у щурів з карциномою Герена // Хімічні проблеми сьогодення : четверта Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів та молодих науковців, 16-18 березня 2010 р. : тези доп. Донецьк, 2010. С. 267.

38. Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І. Застосування наноліпосом та твердих наночасток, навантажених реній-платиновою протипухлинною системою у моделі пухлинного росту // Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології : Х ювілейна наукова конференція молодих онкологів України за участю міжнародних спеціалістів, 22-24 квітня 2010 г. : тези доп. Київ, 2010. С. 61.
39. Шамелашвілі К. Л. Utilisation nanoliposom et solid nanopaticules charges antitumorale reni-platinovschyu systeme dans la tumeur models. // Актуальні дослідження в сфері соціально-гуманітарних наук : матеріали Регіональної студентської наукової конференції, 29-30 квітня 2010 р. Дніпропетровськ, 2010. С. 236.
40. Шамелашвілі К. Л. Штеменко Н. І. Протипухлинні та антиоксидантна активність системи реній-платина // Укр. біохім. журнал. 2010. Т. 82, № 4 (додаток 2). С. 322.
41. Шамелашвілі К., Леус І., Скорик О., Штеменко Н. Стан системи антиоксидантного захисту крові під дією системи реній-платина // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології другої міжнародної наукової конференції, 24-25 вересня 2013 р. : тези доп Днепропетровск, 2013. С. 73.
42. Шамелашвілі К. Л., Орлова М. В., Леус І. В., Горіла М. В., Штеменко Н. І. Ензими антиоксидантного захисту крові в щурів із резистентною карциномою Герена за введення системи Реній-Платина // Укр. біохім. Журнал. 2014. Т. 86, № 5 (додаток 1). С. 226.
43. Шамелашвілі К. Орлова М., Єрмак І., Горіла М., Штеменко Н. Вплив кластерної сполуки ренію з ферулатними лігандами і цисплатину на систему антиоксидантного захисту пухлино носіїв // Молодь і поступ біології : XI міжнародна конференція студентів і аспірантів, 20-23 квітня 2015 р. : тези доп. Львів, 2015. С. 130
44. Шамелашвілі К. Л., Шаторна В. Ф., Грабовська О. І., Штеменко Н. І. Характеристика оксидативного стресу еритроцитів щурів-пухлиноносіїв

- за введення кластерних сполук ренію(iii) з біологічно активними лігандами // Вістник проблем біології і медицини. 2018. Вип. 4, Т. 2 (147). С. 197-200.
45. Штеменко А. В., Столяренко В. Г., Домасевич К. В. Синтез, строение и свойства соединения  $[\text{Re}_2(\text{HPO}_4)_2(\text{H}_2\text{PO}_2)_2] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  // Коорд. химия. 2007. Т. 33, № 2. С. 83–88.
  46. Юлдашев Р. М., Ходиев С. В. Влияние актовегина на процессы перекисного окисления липидов в крови и ликворе у больных с тяжелой черепно-мозговой травмой // Нейрохирургия. 2002. Т. 2. С. 30-33.
  47. Яблонська С. В. Філінська О. М. Оцінка гепатотоксичності нового похідного малеїміду з цитостатичною активністю і його вплив на пероксидне окислення та антиоксидантну систему печінки // Укр. Біохім. журн. 2009. Т. 81. С. 83-92.
  48. Agar N., Sadrzadeh S., Hallaway P, Eaton J. Erythrocyte Catalase. A Somatic Oxidant Defense? // The American Society for Clinical Investigation. 1986. Vol. 77. P. 319-321.
  49. Alama A., Orengo A., Ferrini S., Gangemi R. Targeting cancer-initiating cell drug-resistance: a roadmap to a new generation of cancer therapies? // Drug Discovery Today. 2012. Vol. 17; N 9/10. P. 435 – 442.
  50. Arany I., Safirstein R. L. Cisplatin nephrotoxicity // Semin Nephrol. 2003. Vol. 23. P. 460–464.
  51. Babiy S. O., Loscutova T. O., Shtemenko N. I. Investigation of kidney state under tumor progression and application of cytostatics // Ukr. Biochem. J. 2012. Vol. 84, N 3. P. 48-56.
  52. Babiy S., Dyomshyna O., Loskutova T., Shtemenko N. Enviromental and Drug Induced Renal Damage- The Way to Protect // Environmetal and Food Safety and Security for South-East Europe and Ukraine – K.Vitae (ed.), NATO Science for Peace and Security Series C: Environmental Security. 2012. P. 251-260.

53. Baker K., Marcus C., Huffman K., Kruk H., Malfroy B., Doctrow S. Synthetic Combined Superoxide Dismutase/Catalase Mimetics Are Protective as a Delayed Treatment in a Rat Stroke Model: A Key Role for Reactive Oxygen Species in Ischemic Brain Injury // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. 1998. Vol. 284. P. 215–221.
54. Bartoszek M., Suákowski W. The Study of influence on bovine liver catalase by means of UV-VIS spectroscopy // *Polish J. of Environ. Stud*. 2006. Vol. 15, N 4A. P. 41-43.
55. Bashri G., Prasad S. Exogenous IAA differentially affects growth, oxidative stress and antioxidants system in Cd stressed *Trigonella foenum-graecum* L. seedlings: Toxicity alleviation by up-regulation of ascorbate-glutathione cycle // *Ecotoxicol Environ Saf*. 2016. N 132. P. 329–338.
56. Baudry M., Etienne S., Bruce A., Palucki M., Jacobsen E., Malfroy B. Salen-manganese complexes are superoxide dismutase-mimics // *Biochem Biophys Res Commun*. 1993. Vol. 192. P. 964 –968.
57. Bhogade R. B., Suryaka A. N., Joshi N. G., Patil R. Y. Effect of vitamin e supplementation on oxidative stress in hemodialysis patients // *Indian Journal of Clinical Biochemistry* 2008. Vol. 23(3). P. 233-237.
58. Bhuyan K., Bhuyan D., Chui W., Malik S., Fridovich I. Desferal-Mn(III) in the therapy of diquat-induced cataract in rabbit // *Arch. Biochem. Biophys*. 1991. Vol. 288. P. 525-532.
59. Blumberg J. Use of Biomarkers of Oxidative Stress in Research Studies // *J. Nutr*. 2004. Vol. 134. P. 3188–3189.
60. Bouliskas T. Low toxicity and anticancer activity of a novel liposomal cisplatin (Lipoplatin) in mouse xenografts // *Oncol Rep*. 2004. Vol. 12. P. 3–12.
61. Breitenbach M., Eckl P. Introduction to Oxidative Stress in Biomedical and Biological // *Research Biomolecules*. 2015. Vol. 5. P. 1169-1177.
62. Brigger I., Dubernet C., Couvreur P. Nanoparticles in Cancer Therapy and Diagnosis // *Adv. Drug Deliv. Rev*. 2002. Vol. 54. P. 631-651.

63. Bruce, A., Najm I., Malfroy B., Baudry M. Effects of desferioxamine/manganeze complexes, a superoxide dismutase mimic, on kainate-incuded pathology in rat brain // Neurodegeneration. 1992. Vol. 1. P. 265-271.
64. Cegnar M., Premzl A., Zavasnik-Bergant V., Kristl J., Kos J. Poly (Lactide-Co-Glycolide) Nanoparticles as a Carrier System for Delivering Cysteine Protease Inhibitor Cystatin into Tumor Cells // Exp. Cell Res. 2004. Vol. 301. P. 223-231.
65. Chekhun V. F., Lebed O. I., Tryndyak V. P., Makovetsky V. P., Todor I. N., Kulik G. I. Structural alterations of plasma membranes of Guerin's carcinoma cells upon the development of resistance to doxorubcine // Exp. Oncol. 2002. Vol. 4. P. 279-283.
66. Clares M., Serena C., Blasco S., Nebot A., del Castillo L., Soriano C., Domenech A., Sanchez-Sanchez A., Soler-Calero L., Mullor J., Garcia-Espana A., Garcia-Espana E. Mn(II) complexes of scorpiand-like ligands. A model for the MnSOD active centre with high in vitro and in vivo activity // Journal of inorganic biochemistry. 2015. Vol. 143. P. 1 -8.
67. Conti M., De Giorgi U., Tazzari V., Bezzi F., Baccini C. Clinical pharmacology of intraperitoneal cisplatin-based chemotherapy // J. Chemother. 2004. Vol. 16. P. 23-25.
68. Davis A., Qiao S., Lesson J., Rojo de la Vega M., Park S., Seanez C., Gokhale V., Cabello C., Wondrak G. The Quinone Methide Aurin Is a Heat Shock Response Inducer That Causes Proteotoxic Stress and Noxa-dependent Apoptosis in Malignant Melanoma Cells // J. Biol. Chem. 2015. N 290. P. 1623–1638.
69. Denny W. A. Prodrug strategies in cancer therapy. // Eur. J. Med. Chem. -. 2001. Vol. 36(7-8). P. 577–595.
70. Devalapally H. Chakilam A., Amiji M. M. Role of nanotechnology in pharmaceutical product development // J. Pharm. Sci. 2007. Vol. 96. P. 2547-2565.

71. Diaz A., Loewen P. C., Fita I., Carpena X. Thirty years of heme catalases structural biology // Archives of biochemistry and biophysics. 2012. Vol. 525. P. 102–110.
72. Durackova Z. Some current insights into oxidative stress. / Physiol. Res. 2010. Vol. 59(4). P. 459-469.
73. Ekborn A., Hansson J., Ehrsson H., Eksborg S., Wallin I., Wagenius G., High-dose cisplatin with amifostine: ototoxicity and pharmacokinetics // Laryngoscope. 2004. Vol. 114. P. 1660-1667.
74. El-Agamey A., Lowe G., McGarvey D., Mortensen A., Phillip D., Truscott T. Carotenoid radical chemistry and antioxidant/pro-oxidant properties // Arch. Biochem. Biophys. 2004. Vol. 430. P. 37–48.
75. Facy O., Radais F., Ladoire S. Comparison of hyperthermia and adrenaline to enhance the intratumoral accumulation of cisplatin in a murine model of peritoneal carcinomatosis // J. Exp. Clin. Cancer Res. 2011. Vol. 30(4). P. 1-8.
76. Fita I., Rossmann M. G The active center of catalase // J. of Mol. Biol. 1985. Vol. 185, N 21. P. 21-37.
77. Fuertes M., Alonso C., Perez J. Biochemical modulation of cisplatin mechanisms of action: enhancement of antitumor activity and circumvention of drug resistance // Chem. Rev. 2003 Vol. 103(3). P. 645–662.
78. Gaetani G., Ferraris A., Rolfo M., Mangerini R., Arena S., Kirkman H. Predominant role of catalase in the disposal of hydrogen peroxide within human erythrocytes // Blood. 1996. Vol. 15, N 87(4). P. 1595-1599.
79. de Garavilla L., Chermak T., Valentine H. L., Hanson R. C. Novel low molecular-weight superoxide dismutase mimic deferoxamine-manganese improve survival following hemorrhagic and endotoxic shock // Drug Dev. Res. 1992. Vol. 5. P. 139-148.
80. Gasparovic A., Lovacovic T., Zarcovic N. Oxidative Stress and Antioxidants: Biological Response Modifiers of Oxidative Homeostasis in Cancer // Periodicum Biologorum. 2010. Vol. 112, N 4. P. 433–439.

81. Gilmore T., Herscovitch M. Inhibitors of NF-kB signaling: 785 and counting // *Oncogene*. 2006. Vol. 25. P. 6887 -6899.
82. Giordano, F. J. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. // *J. Clin. Invest.* 2005. Vol. 115. P. 500–508.
83. Golichenko A. A., Shtemenko A. V. Cluster Rhenium (III) Complexes with Adamantanecarboxylic Acids: Synthesis and Properties // *Russian Journal of Coordination Chemistry*. 2006. Vol. 32, N 4. P. 242–249.
84. Golichenko, A. A., Domasevitch K. V., Kytova D. E., Shtemenko A. V. Crystal structure of cis-bis( $\mu$ - $\beta$ -alanine- $\kappa^2$ O:O')bis[trichloridorhenium(III)](Re–Re) sesquihydrate // *Acta Cryst.* 2015. Vol. 71. P. 45-47.
85. González-García J., Martínez-Camarena À., Verdejo B., Clares M., Soriano C., García-España E., Jiménez H., Doménech-Carbó A., Tejero R., Calvo E., Briansó-Llort L., Serena C., Trefler S., Garcia-España A. Oxidative stress protection by manganese complexes of tail-tied aza-scorpian ligands // *J. Inorg. Biochem.* 2016. Vol. 163. P. 230-239.
86. Goossens V., De Vos K., Vercammen D., Steemans M., Vancompernelle K., Fiers W., Vandenabeele P., Grooten J. Redox regulation of TNF signaling // *Biofactors*. 1999. Vol. 10. P. 145–156.
87. Goyal M., Basak A. Human catalase: looking for complete identity // *Protein Cell*. 2010. Vol. 1. P. 888–897.
88. Guemouri L., Artur Y., Herbeth B., Jeandel C., Cuny G., Siest G. Biological variability of superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and catalase in blood // *Clin. Chem.* 1991. Vol. 37(11). P. 1932–1937.
89. Gupta S., Sundaram C., Reuter S., Aggarwal B. B. Inhibiting NF-kB activation by small molecules as a therapeutic strategy // *Biochem. Biophys. Acta*. 2010. Vol. 1799(10-12). P. 775-787.
90. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? // *Biochem. J.* 2007. Vol. 401. P. 1–11.

91. Halliwell B. Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of iron chelates: is it a mechanism for hydroxyl radical production in biochemical systems // FEBS Lett. 2001. Vol. 92. P. 321-326.
92. Hensley K., Robinson K., Gabbita S., Salsman S., Floyd R. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28. P. 1456–1462.
93. Howard M. D., Greineder C. F., Hood E. D., Muzykantov V. R. Endothelial targeting of liposomes encapsulating SOD/Catalase mimetic EUK-134 alleviates acute pulmonary inflammation // J. Control Release. 2014. Vol. 177. P. 34–41.
94. Hussain S. P., Hofseth L. J., Harris C. C. Radical causes of cancer // Nat. Rev. Cancer. 2003. Vol. 3. P. 276–285.
95. Hybertson B., Gao B., Bose S., McCord J. Oxidative stress in health and disease: The therapeutic potential of Nrf2 activation // Mol. Aspects Med. 2011. Vol. 32. P. 234 – 246.
96. Ikeda, Y., Anderson J., Wunderlich C., Hilton J., Long D. Effect of superoxide dismutase in rabbits with peritumoral edema, Adv // Neurol. 1990. Vol. 52. P. 441-447.
97. Igarashi K., Onhuma M. Effects of I2sorhamnetin, Rhamnetin, and Quercetin on the Concentrations of Cholesterol and Lipoperoxide in the Serum and Liver and on the Blood and Liver Antioxidative Enzyme Activities of Rats //Biosci. Biotech. Biochem. 1995. Vol. 59, N 4. P. 595-601.
98. Ince Sinan, Damla Arslan Acaroz, Ondr ůej Neuwirth, Hasan Huseyin Demirel, Baris Denk, Ismail Kucukkurt, Ruhi Turkmen Protective effect of polydatin, a natural precursor of resveratrol, against cisplatin-induced toxicity in rats // Food and Chemical Toxicology. 2014. Vol. 72. P. 147–153.
99. Ivchuk V. V., Polishko T. M., Golichenko O. A., Shtemenko A. V., Intvtyrj Y. S. Influence of the antitumor rhenium-platinum system on the biochemical state of liver // Ukr. Biochem. J. 2011. Vol. 83, N 3. P. 76 -84.

100. Jabs T. Reactive oxygen intermediates as mediators of programmed cell death in plants and animals // *Biochem Pharmacol.* 1999. Vol. 57. P. 231–245.
101. Jain K. K. Role of nanobiotechnology in developing persona-lized medicine for cancer // *Technol. Cancer Res. Treat.* 2005. Vol. 4. P. 645–650.
102. Jain K. K. The role of nanobiotechnology in drug discovery // *Drug Discov. Today.* 2005. Vol. 10. P. 1435–1442.
103. Jakopitsch C., Vlasits J., Wiseman B. Redox Intermediates in the Catalase Cycle of Catalase-Peroxidases from *Synechocystis* PCC 6803 , *Burkholderia pseudomallei* , and *Mycobacterium tuberculosis* // *Biochemistry.* 2007. N 46. P. 1183 – 1193.
104. Jeon Seung Hyun Jae-Hoon Park<sup>1</sup>, Sung-Goo Chang Expression of antioxidant enzymes (catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase) in human bladder cancer // *대한비뇨기과학회지* : . 2007 Vol. 48(9). P. 921-926.
105. Jiang M., Liu Z., Xiang Y. Synergistic antitumor effect of AAV-mediated TRAIL expression combined with cisplatin on head and neck squamous cell carcinoma // *BMC Cancer.* 2011. Vol. 11. P. 54.
106. Jungwirth U., Kowol C., Keppler B., Hartinger C., Berger W., Heffeter P. Anticancer activity of metal complexes: involvement of redox processes // *Antioxid Redox Signal.* 2011. Vol. 15(4). P. 1085–1127.
107. Khynriam D., Prasad S. Changes in endogenous tissue glutathione level in relation to murine ascites tumor growth and the anticancer activity of cisplatin. // *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2003. Vol. 36. P. 53-63.
108. Klaunig J., Kamendulis L., Hocesvar B. Oxidative Stress and Oxidative Damage in Carcinogenesis // *Toxicologic Pathology.* 2010. Vol. 38. P. 96-109.
109. Kojo S. Vitamin C: Basic metabolism and its function as an index of oxidative stress // *Curr. Med. Chem.* 2004. Vol. 11. P. 1041–1064.
110. Konat G.W. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced higher order chromatin degradation: a novel mechanism of oxidative genotoxicity // *J. Biosci.* 2003. Vol. 28. P. 57–60.

111. Kulik G. J., Pivnyuk V. M., Nosko M. M., Todor I. N., Chekhun V. F. Liposomal drugs approach to overcome drug resistance to cisplatin // *Onkologiya*. 2009. Vol. 11(1). P. 76–80
112. Lakatta E. G. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises: part III: cellular and molecular clues to heart and arterial aging. // *Circulation*. 2003. Vol. 107. P. 490–497.
113. Lee M. S. Systematic prioritization of cancer combination therapies: are we really on target? // *Future Med. Chem.* 2012. Vol. 4. P. 387–389.
114. Leus I. V., Klenina I. O., Zablotska K. A., Golichenko O. A., Shtemenko O. V., Shtemenko N. I. Interaction of blood albumines with cluster rhenium compounds of cis- and trans-configuration // *Biopolymers&Cells*. 2011. Vol. 27, N 6. P. 460-466.
115. Leus I., Zabitskaya E., Collery P., Shamelashvili K., Yegorova D., Shtemenko N. Investigation of antioxidant properties of the cluster rhenium compound in the model of tumor growth // *Metal Ions in biology and medicine*. 2008. Vol. 10. P. 399-402.
116. Li Z., Shtemenko N., Yegorova D., Babiy S., Brown A., Yang T., Shtemenko A., Dunbar K. Liposomes loaded with a dirhenium compound and cisplatin: preparation, properties and improved in vivo anticancer activity // *J. Liposome Res.* 2015. Vol. 25(1). P. 78-87.
117. Lipinsky, C. A. Drug-Like Properties and the Causes of Poor Solubility and Poor Permeability // *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*. 2000. Vol. 44. P. 235-249.
118. Liu J., Wang Z. Increased Oxidative Stress as a Selective Anticancer Therapy // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2015. P. 1-12.
119. Liu T. H., Beckman J. S., Freeman B. A., Hogan E. L., Hsu C. Y. Polyethylene glycol-conjugated SOD and catalase reduce ischemic brain injury // *Am. J Physiol*. 1989. P. 589 –593.
120. Liu Y., Miyoshi H., Nakamura M. Nanomedicine for Drug Delivery and Imaging: A Promising Avenue for Cancer Therapy and Diagnosis Using

- Targeted Functional Nanoparticles // *Int. J. Cancer*. 2007. Vol. 120. P. 2527-2537.
121. Lockwood T. D. Redox control of protein degradation. // *Antioxid. Redox Signal*. 2000. Vol. 2. P. 851–878.
  122. Lushchak V. I. Classification of oxidative stress based on its intensity // *EXCLI Journal*. 2014. Vol. 13. P. 922-937.
  123. Lushchak Volodymyr I. Dissection of the hormetic curve: analysis of components and mechanisms // *Dose-Response*. 2014. Vol. 12. P. 466–479.
  124. Mao G. D., Panakkezhum D. T., Lopaschuk G. D., Poznansky M. J. Superoxide dismutase (SOD)-catalase conjugates Role of hydrogen peroxide and the fenton reaction in sod toxicity // *J. of Biol. Chem*. 1993. Vol. 268, Is. 1. P. 416-420.
  125. Maruf A. A., Lip H., Wong H., O'Brien P. J. Protective effects of ferulic acid and related polyphenols against glyoxal- or methylglyoxal-induced cytotoxicity and oxidative stress in isolated rat hepatocytes // *Chem. Biol. Interact*. 2015. N 234. P. 96–104.
  126. Mates J. M., Perez- C. Gomez, De Castro I. N. Antioxidant enzymes and human diseases // *Clin. Biochem*. 1999. Vol. 32. P. 595–603.
  127. Mathur M., Reid J., Sicignano A., Tanaka N., Rossmann M. Structure of beef liver catalase // *J. Mol. Biol*. 1981. Vol. 152(2). P. 465-499.
  128. Medina C., Santos-Martinez M., Radomski A, Corrigan O., Radomski M. Nanoparticles: pharmacological and toxicological significance // *British Journal of Pharmacology*. 2007. P. 1–7.
  129. Meerson F. Z., Evstigneeva M. E., Ustinova E. E. Effect of chronic haemolytic anemia on heart contractile function and increase of its resistance to hypoxia // *Pat. Physiol and Exp. Therap*. 1983. Vol. 5. P. 25-29.
  130. Miguel M., Cordero M. Oxidative Therapy Against Cancer // *Biochemistry, Genetics and Molecular Biology* book edited by Volodymyr I. Lushchak and Dmytro V. Gospodaryov. 2012. P. 497-520.

131. Miller R., Tadagavadi R., Ramesh G., Reeves W. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity // *Toxins*. 2010. Vol. 2. P. 2490–2518.
132. Möhler H., Pfirman R., Frei K. Redox-directed cancer therapeutics: Taurolidine and Piperlongumine as broadly effective antineoplastic agents (Review) // *Int. J. Oncol.* 2014. N 45. P. 1329–1336.
133. Muscoli C., Cuzzocrea S., Riley D., Zweier Jay L., Thiemermann C., Zhi-Qiang Wang, D. Salvemini On the selectivity of superoxide dismutase mimetics and its importance in pharmacological studies // *Br. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 140. P. 445–460.
134. Nagano T., Hirano T., Hirobe M. Superoxide dismutase mimics based on iron in vivo // *J. Biol. Chem.* 1989. Vol. 264. P. 9243-9249.
135. Nikolic-Kokic A., Blagojevic D., Spasic M.B. Complexity of free radical metabolism in human erythrocytes // *J. Med. Biochem.* 2010. Vol. 29. P. 189–195.
136. Nikolic-Kokic Aleksandra Lipid status, anti-oxidant enzyme defence and haemoglobin content in the blood of long-term clozapine-treated schizophrenic patients // *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. 2010. Vol. 34. P. 303–307
137. Noda N., Wakasugi H. Cancer and Oxidative Stress // *JMAJ*. 2001. Vol. 44(12). P. 535–539.
138. Novo E., Parola M. Parola redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis // *Fibrogenesis & Tissue Repair*. 2008. Vol.1(5). P. 1-52.
139. Ognjanovic B. I., Pavlovic S. Z., Maletic S. D., Zikic R. V., Stajn A. S., Radojicic R. M., Saicic Z. S., Petrovic V. M. Protective influence of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium // *Physiol. Res*. 2003. Vol. 52. P. 563 - 570.
140. Pandir D., Ozlem K. Chemopreventive effect of bilberry (*Vaccinium myrtillus*) against cisplatin-induced oxidative stress and DNA damage as

- shown by the comet assay in peripheral blood of rats // *Biologia. Section Cellular and Molecular Biology*. 2014. Vol. 69, N 6. P. 811—816.
141. Peppas L. B., Blanchette J. O. Nanoparticle and targeted systems for cancer therapy // *Adv. Drug. Del. Rev.* 2004. Vol. 56. P. 1649.
  142. Pereira B.M., Chan P. H., Weinstein P. R., Fishman R. A. Cerebral protection during reperfusion with superoxide dismutase in focal cerebral ischemia // *Adv. Neurol.* 1990. V. 52. P. 97-103.
  143. Pirmohamed T., Dowding J., Singh S. Nanoceria exhibit redox state-dependent catalase mimetic activity // *Chem. Commun (Camb)*. 2010. Vol. 46. P. 2736–2738.
  144. Poyton R. O., Ball K. A., Castello P. R. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling // *Trends Endocrinol. Metab.* 2009. Vol. 20. P. 332–340.
  145. Rabinovitch H., Privalle C., Fridovich I. Effects of paraquat on the green alga *Dunaliella salina* : protection by the mimic of superoxide dismutase, desferal-MnIV // *Free Radical Biol. & Medicine*. 1987. Vol. 3. P. 125-131.
  146. Rahal A., Kumar A., Singh V., Yadav B., Tiwari R., Chakraborty S., Dhama K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay // *BioMed Research International*. 2014. P. 1 – 19.
  147. Rahman I. Oxidative stress, chromatin remodeling and gene transcription in inflammation and chronic lung diseases // *J. Biochem. Mol. Biol.* 2003. Vol. 36. P. 95–109.
  148. Raju G., Benton L., Pavitra E., Yu J. Multifunctional nanoparticles: recent progress in cancer therapeutics // *Chem. Commun (Camb)*. 2015. Vol. 51(68). P. 13248-13259.
  149. Ramachandran S., Quist A., Kumar S., Lal R. Cisplatin nanoliposomes for cancer therapy: AFM and fluorescence imaging of cisplatin encapsulation, stability, cellular uptake, and toxicity // *Langmuir*. 2006. Vol. 22(19). P. 8156–8162.

150. Ratnam D., Ankola D., Bhardwaj V., Sahana D., Kumar M. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective // *J. Control Release*. 2006. Vol. 113. P. 189–207.
151. Rattan R., Graham R., Maguire J. Metformin suppresses ovarian cancer growth and metastasis with enhancement of cisplatin cytotoxicity in vivo // *Neoplasia*. 2011. Vol. 13. P.483–491.
152. Reuter S., Gupta S. C., Chaturvedi M., Aggarwal B. Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? // *Free Radic. Biol. Med.* 2010. Vol. 49(11). P. 1603–1616.
153. Rifkind J., Nagababu E., Ramasamy S., Ravi L. Hemoglobin redox reactions and oxidative stress // *Redox Rep.* 2003. Vol. 8(5). P. 234–237.
154. Rong Y. Doctrow SR, Tocco G, EUK-134, a synthetic superoxide dismutase and catalase mimetic, prevents oxidative stress and attenuates kainate-induced neuropathology // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1999. Vol. 96. P. 9897–9902.
155. Sancho P., Troyano A., Fernández C., De Blas E., Aller P. Differential effects of catalase on apoptosis induction in human promonocytic cells. Relationships with heat-shock protein expression. // *Mol. Pharmacol.* 2003. Vol. 63. P. 581–589.
156. Shamelashvili K. L., Shtemenko N. I., Leus I. V., Babiy S. O., Shtemenko O.V. Changes in oxidative stress intensity in blood of tumor-bearing rats following different modes of administration of rhenium-platinum system // *Ukrainian Biochemical Journal*. 2016.Vol. 88, N 4. P. 29-39.
157. Sheng H., Bart R., Oury T., Mice overexpressing extracellular superoxide dismutase have increased resistance to focal cerebral ischemia Pearlstein R. D // *Neuroscience*. 1999. Vol. 88, N 1. P. 185-191.
158. Shtemenko A. V., Collery P., Shtemenko N. I., Domasevitch K. V., Zabitskaya E. D., Golichenko A. A. Synthesis, characterization, in vivo antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin // *Dalton Trans.* 2009. Vol. 26. P. 5132-5136.

159. Shtemenko A.V., Chifotides H. T., Yegorova D. E., Shtemenko N. I., Kim R. Dunbar Synthesis and X-ray crystal structure of the dirhenium complex  $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{CO}_2)_4\text{Cl}_2$  and its interactions with the DNA purine nucleobases // *Journal of Inorganic Biochemistry*. 2015. Vol.129. P. 127-134.
160. Shtemenko O. V., Shtemenko N. I. Rhenium–Platinum antitumor systems // *Ukr. Biochem. J.* 2017. Vol. 89, N 2. P. 5–30.
161. Shtemenko O. V., Zeleniuk M. A., Shtemenko N. I., Verbyts'ka Y. C. Spectrophotometric study of the interaction between rhenium complexes and phosphatidylcholine during liposome formation. // *Ukr. Biokhim. Zh.* 2002. Vol. 74(6). P. 91–96.
162. Shtemenko N., Collery P., Shtemenko A. Dichlorotetra-mu-Isobutyratodirhenium(III): enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties // *Anticancer Res.* 2007. Vol. 27. P. 2487-2492.
163. Shtemenko N. I., Babiy S. A., Chifotides H. T. Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III) // *J. Inorg. Biochem.* 2013. Vol. 129. P. 127–134.
164. Sies H. Oxidative stress: a concept in redox biology and medicine // *Redox Biology*. 2015. Vol. 4. P. 180–183.
165. Siddik Z. H. Cisplatin: mode of cytotoxic action and molecular basis of resistance // *Oncogene*. 2003. Vol. 22. P. 7265-7279.
166. Sinclair D. A. Paradigms and pitfalls of yeast longevity research // *Mech. Ageing Dev.* 2002. Vol. 123. P. 857–867.
167. Skorik O., Leus I., Shamelashvili K., Shtemenko N. Mechanism of oxidative stress as a nonspecific reply on exogenous influence // *Environmental and food security and safety in southeast Europe and Ukraine : abstr. NATO Advanced Research Workshop (ARW)*. 15-19 may 2011. Dnepropetrovsk'k, 2011. P. 79.

168. Somaia Said Abd El-Karim, Magdy Ibrahim El-Zahar, Manal Mohamed Anwar Nanotechnology in Cancer Diagnosis and Treatment // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2015. Vol. 3. P. 299-315.
169. Sosa V., Moliné T., Somoza R., Paciucci R., Kondoh H., LLeonart M. E. Oxidative stress and cancer: An overview //Ageing Research Reviews. 2013. Vol. 12. P. 376–390.
170. Spasic M. B. Antioxidative defence in mammals – A review //Jugoslov. Med. Biochem. 1993. Vol.12. P. 1–9.
171. Spasojevic I. Electron paramagnetic resonance – A powerful tool of medical biochemistry in discovering mechanisms of disease and treatment prospects // J. Med. Biochem. 2010. Vol. 29. P. 175–188.
172. Stadtman E. R., Levine R. L. Free radical-mediated oxidation of free amino acids and amino acid residues in proteins // Amino Acids. 2003. Vol. 25. P. 207–218.
173. Stathopoulos G., Antoniou D., Dimitroulis J., Stathopoulos J., Marosis K., Michalopoulou P. Comparison of liposomal cisplatin versus cisplatin in non-squamous cell non-small-cell lung cancer // Cancer Chemother. Pharmacol. 2011. Vol. 68(4). P. 945–950.
174. Suematsu N. Oxidative stress mediates tumor necrosis factor-alpha-induced mitochondrial DNA damage and dysfunction in cardiac myocytes.// Circulation. 2003. Vol. 107. P. 1418–1423.
175. Tandon V., Sharma S., Mahajan A., Bardi G. Oxidative Stress : A Novel Strategy in Cancer Treatment //JK SCIENCE. 2005. Vol. 7(1). P. 1-3.
176. Taylor S.K. Erythropoietine (Erh-ipo) more than treatment of anemia in cancer and hemotherapy? // Medical Hypothesis. 2003. Vol. 1. P. 89–93.
177. Tekola R. Liposomal cisplatin: lipoplatin // EJOP. 2007. Vol. 1. P. 15–20.
178. Tomas M., Coyle K., Sultan M., Vaghar-Kashani A., Marcato P. Chemoresistance in cancer stem cells and strategies to overcome resistance // Chemotherapy. 2014. Vol. 3(1). P. 2 – 10.

179. Toyokuni S., Okamoto K., Yodoib J., Hiai H. Persistent oxidative stress in cancer // FEBS Letters. 1995. Vol. 358. P. 1-3.
180. Turrens J. F., Crapo J. D., Freeman B. A. Protection against Oxygen Toxicity by Intravenous Injection of Liposome-entrapped Catalase and Superoxide Dismutase // J. Clin. Invest. 1984. Vol. 73. P. 87 - 95.
181. Uchida K., Kawakishi S. Identification of oxidized histidine generated at the active site of Cu,Zn-superoxide dismutase exposed to  $H_2O_2$  . Selective generation of 2-oxo-histidine at the histidine 118 // J. Biol. Chem. 1994. Vol. 269(4). P. 2405-2410.
182. Vankayala S. L., Hargis J.C., Woodcock H.L. How Does Catalase Release Nitric Oxide? A Computational Structure Activity Relationship Study // J. Chem. Inf. Model. 2013. Vol. 53(11). P .2951–2961.
183. Voronkova Y. S., Babiy S. O., Ivans'ka L. V., Shtemenko O. V., Shtemenko N. I. Antioxidant Properties of Cluster Rhenium Compounds and Their Influence of Erythropoiesis of Rats with Guerin Carcinoma // Ukr. Biochem. 2015. Vol. 87(1). P. 45–54.
184. Wernyj R.P., Morin P.J. Molecular mechanisms of platinum resistance: still searching for the Achilles' heel // Drug Resist Updat. 2004. Vol.7. P. 227-232.
185. Winterbourn C. C. Haemoglobin oxidation and free radical production in the red cell // Biomed. Biochim. Acta. 1983. Vol. 42 (11–12). P. 134–138.
186. Wondrak G. T. Redox-Directed Cancer Therapeutics: Molecular Mechanisms and Opportunities //Antioxidants & redox signaling. 2009. Vol. 11(12). P. 3013-3069.
187. Wu A., Zheng L., Xiao Q. How cancer outsmarts treatments assessing drug resistance in tumors // J. Cancer Biol. Res. 2013. Vol. 1(3). P. 1-4.
188. Yih T., Al-Fandi M. Engineered nanoparticles as precise drug delivery systems // Journal of CellularBiochemistry. 2006. Vol. 97. P. 1184-1190.
189. Yoshikawa T., Naito Y. What Is Oxidative Stress? // JMAJ. 2002. Vol. 45(7). P. 271–276.

190. Young, I. S., Woodside, J. V. Antioxidants in health and disease.// J. Clin. Pathol. 2001. Vol 54. P. 176–186.
191. Zhongkun Ren, Rongping Zhang, Yuanyuan Li, Yu Li, Zhiyong Yang, Hui Yang Ferulic acid exerts neuroprotective effects against cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via antioxidant and anti-apoptotic mechanisms in vitro and in vivo // International journal of molecular medicine. 2017. Vol. 40. P. 1444-1456.

## ДОДАТОК 1

## СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Наукові праці у наукових фахових виданнях України:*

1. Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л.**, Скорик О. Д., Ніколенко О. І., Штеменко Н. І. Цитостабілізуючі властивості кластерних сполук ренію як інгібіторів перекисного окиснення ліпідів у процесі зберігання // Вісник ДНУ. Серія: Біологія. Медицина 2011. Т. 2, Вип. 2. С. 56-62. *(Здобувачем виконано моделювання пухлинного росту, експериментальну частину роботи стосовно дослідження вмісту ТБК-активних продуктів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

1а. **Шамелашвілі К. Л.**, Семенов С. С., Чугуз О. О., Лоскутова Т. О., Штеменко Н. І. Стан коагуляційного гомеостазу при канцерогенезі та застосуванні системи реній-платина у наноформах // Вісник ДНУ Серія: Біологія. Медицина. 2011. Т. 2, Вип. 2. С. 110-116. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження вмісту ТБК-активних продуктів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

2. **Шамелашвілі К. Л.**, Лоскутова Т. О., Штеменко Н. І. Корреляция показателей системы гомеостаза с маркерами перекисного окисления липидов у беременных с преэклампсией // Вісник Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна. Серія: біологія. 2013. Вип. 17, № 1056. С. 196-201. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

3. Грабовська О. І., Скорик О. Д., **Шамелашвілі К. Л.**, Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Біохімічні характеристики крові щурів з резистентною

карциномою Герена за введення протипухлинної системи Реній-Платина // Вісник проблем біології та медицини. 2017. Вип. 1 (135). С. 124-131. *(Здобувачем виконано ведення експериментальних речовин, проведенні дослідження активності ферментів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

4. **Шамелашвілі К. Л.**, Шаторна В. Ф., Грабовська О. І., Штеменко Н. І. Характеристика оксидативного стресу еритроцитів щурів-пухлиноносіїв за введення кластерних сполук ренію(ііі) з біологічно активними лігандами // Вісник проблем біології і медицини. 2018. Вип.4, Т. 2(147). С. 197-200. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

*Наукові праці у виданнях, що входять до наукометричних баз:*

5. Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л.**, Скорик О. Д., Третьак С. Ю., Голіченко О. А., Штеменко О. В., Штеменко Н. І. Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена // Укр. біохім. журн. 2012. Т. 84, № 3. С. 87-96. (Leus I. V. , Shamelashvili K. L., Skorik O. D., Tretyak S. Y., Golichenko O. A., Shtemenko O. V. , Shtemenko N. I. Antioxidant and antitumor activity of dirhenium dicarboxylates in animals with Guerin carcinoma // Ukrain'skyi Biokhimichnyi Zhurnal. 2012. Vol. 84(3). P. 72-81.) (Scopus). *(Здобувачем виконано моделювання пухлинного росту, експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів in vivo, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

6. **Shamelashvili K. L.**, Shtemenko N. I., Leus I.V., Babiyy S.O., Shtemenko O.V. Changes in oxidative stress intensity in blood of tumor-bearing rats following different modes of administration of rhenium-platinum system // Ukrainian

Biochemical Journal. 2016. Vol. 88, N 4. P. 29-39. (Scopus). *(Здобувачем виконано моделювання пухлинного росту, експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів in vivo, статистичну обробку даних та написання рукопису статті).*

*Наукові праці апробаційного характеру (тези доповідей на наукових конференціях) за темою дисертації:*

7. **Шамелашвілі К. Л.,** Леус І. В., Жабитська О. Д., Штеменко Н. І. Ферменти антиоксидантного захисту у моделі пухлинного росту // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології : українська міжнародна конференція, 30-31 жовтня 2008 р. : тези доп. Дніпропетровськ, 2008. С. 73-А. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

8. Семенов С. С., **Шамелашвілі К. Л.,** Штеменко Н. І. Зміни активності антиоксидантних ферментів крові в моделі пухлинного росту // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : матеріали І міжнародної наукової конференції студентів, аспірантів та молодих учених, Т. 2, 23-26 лютого 2009 р. Донецьк, 2009. С. 61. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

9. **Шамелашвілі К. Л.,** Штеменко Н. І. Застосування наноліпосом та твердих наночасток, навантажених реній-платиновою протипухлинною системою у моделі пухлинного росту // Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології : Х ювілейна наукова конференція молодих онкологів України за участю міжнародних спеціалістів, 22-24 квітня 2010 г. : тези доп. Київ, 2010. С. 61. *(Здобувачем проведено дослідження активності*

*ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

10. **Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І.** Протипухлинні та антиоксидантна активність системи реній-платина // Укр. біохім. журнал. 2010. Т. 82, № 4 (додаток 2). С. 322. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

11. **Шамелашвили К. Л., Леус И. В., Скорик Е. Д., Николенко Е. И.** Интенсивность оксидативного стресса при торможении опухолевого роста соединениями рения // Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования : материалы международной научно-практической конференции. Ч.1, 31 марта – 1 апреля 2011 р. Курск, 2011. С. 238-242. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

12. Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л., Штеменко Н. І.** Цитостабілізуючі властивості кластерних сполук ренію // Сучасні проблеми природничих наук : матеріали VI всеукраїнської студентської наукової конференції, 5-6 квітня 2011р. Ніжин, 2011. С. 78. *(Здобувачем зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до написання тез).*

13. Skorik O., Leus I., **Shamelashvili K., Shtemenko N.** Mechanism of oxidative stress as a nonspecific reply on exogenous influence // Environmental and food security and safety in southeast Europe and Ukraine : abstr. NATO Advanced Research Workshop (ARW). 15-19 may 2011. Dnepropetrovsk'k, 2011. Р. 79. *(Здобувачем зроблено аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до написання тез)*

14. **Шамелашвілі К. Л., Леус І. В., Скорик Е. Д., Штеменко Н. І.** Оксидативний стрес та його корекція сполуками ренію при канцерогенезі // Фундаментальні та прикладні дослідження в біології : матеріали II

міжнародної наукової конференції студентів,аспірантів та молодих учених, 19-22 вересня 2011р. Донецьк, 2011. С. 122. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

15. **Шамелашвілі К. Л.**, Леус І. В., Штеменко Н. І. Вплив сполук ренію на антиоксидантну систему щурів при розвитку карциноми Герена // Шевченківська весна 2012 : Х міжнародна конференція студентів та молодих науковців, 19-23 березня 2012 р. : тези доп. Київ, 2012. С. 331. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

16. Леус І. В., Ніколенко О. І., **Шамелашвілі К. Л.**, Скорик О. Д., Штеменко Н. І. Вплив алкільних цис-дикарбоксилатів диренію на антиоксидантну систему у щурів при розвитку новоутворення // Молодь і поступ біології : VIII міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів , 3-6 квітня 2012 р. : тези доп. Львів, 2012. С. 60-61. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

17. Орлова М. В., Леус І. В., **Шамелашвілі К. Л.**, Горіла М. В., Штеменко Н. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту при введенні системи реній-платина у щурів з карциномою Герена // Сучасні проблеми природничих наук : матеріали VIII всеукраїнської студентської наукової конференції, 17-18 квітня 2013 р. Ніжин, 2013. С. 69. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

18. **Шамелашвілі Карина**, Леус Інга, Скорик Олена, Штеменко Наталія Стан системи антиоксидантного захисту крові під дією системи

реній-платина // Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології : друга міжнародна наукова конференція, 24-25 вересня 2013 р. : тези доп. Днепропетровск, 2013. С. 73. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

19. **Шамелашвілі К. Л.**, Орлова М. В., Леус І. В., Горіла М. В., Штеменко Н. І. Ензими антиоксидантного захисту крові в щурів із резистентною карциномою Герена за введення системи Реній-Платина // Укр. біохім. журнал. 2014. Т. 86, № 5 (додаток 1). С. 226. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

20. **Шамелашвілі К.**, Орлова М., Єрмак І., Горіла М., Штеменко Н. Вплив кластерної сполуки ренію з ферулатними лігандами і цисплатину на систему антиоксидантного захисту пухлино носіїв // Молодь і поступ біології: XI міжнародна конференція студентів і аспірантів, 20-23 квітня 2015 р. : тези доп. Львів, 2015. С. 130. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

21. Орлова М. В. **Шамелашвілі К. Л.**, Горіла М. В., Штеменко Н. І. Активність ферментів антиоксидантного захисту щурів за умов введення системи реній - платина зі звичайною та резистентною до цисплатину карциномою герена // III Міжнародний форум студентів, аспірантів і молодих учених, 23-24 квітня 2015 р. : тези доп. Дніпропетровськ, 2015. С. 437-439. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

*Наукові праці, які додатково відображають наукові результати дисертації:*

22. Величко О. В., Штеменко Н. І., **Шамелашвілі К. Л.**, Штеменко О. В. Каталазна активність деяких кластерних сполук диренію(III) // Вопросы химии и химической технологи. 2017. – Т. 3 (112). С. 4-9. (Velichko O. V., Shtemenko N. I., Shamelashvili K. L., Shtemenko O.V. Catalase activity of some rhenium (III) clusters / Voprosy Khimii I Khimicheskoi Tekhnologii. 2017. Vol. 3(112). P. 4-9). (Scopus). *(Здобувачем проведено дослідження каталазної активності сполук Ренію та підготовлено матеріали до друку).*

23. Leus I., Zabitskaya E., Collery P., **Shamelashvili K.**, Egorova D., Shtemenko N. Investigation of antioxidant properties of the cluster rhenium compound in the model of tumor growth // Metal Ions in biology and medicine. 2008. Vol. 10. P. 399-402. *(Здобувачем виконано експериментальну частину роботи стосовно дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, написання рукопису статті).*

24. **Шамелашвили К. Л.**, Скорик О. Д., Ніколенко О. І., Кононова Г. С. Вплив сполук ренію з ацетофосфатним лігандом на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів та ріст пухлини у щурів з карциномою Герена // Хімічні проблеми сьогодення : четверта Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів та молодих науковців, 16-18 березня 2010 р. : тези доп. Донецьк, 2010. С. 267. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

25. **Шамелашвілі К. Л.** Utilisation nanoliposom et solid nanopaticules charges antitumorale reni-platinovschyu systeme dans la tumeur models. // Актуальні дослідження в сфері соціально-гуманітарних наука: матеріали Регіональної студентської наукової конференції, 29-30 квітня 2010 р. Дніпропетровськськ, 2010. С. 236. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних*

*продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

### **Апробація результатів дисертації**

1. Всеукраїнська наукова конференція з міжнародною участю «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології». Дніпропетровськ, 30-31 жовтня 2008 р. Заочна форма участі.
2. Міжнародна наукова конференція «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології». Донецьк, 23-26 лютого 2009 р. Заочна
3. Четверта Всеукраїнська наукова конференція студентів, аспірантів та молодих науковців «Хімічні проблеми сьогодення». Донецьк, 16-18 березня 2010 р. Заочна форма участі.
4. X Юбилейная научная конференция молодых онкологов украины с участием международных специалистов «Сучасні проблеми експериментальної та клінічної онкології». Киев, 22-24 квітня 2010 г. Очна форма участі.
5. Регіональна студентська наукова конференція «Актуальні дослідження в сфері соціально-гуманітарних наук». Дніпропетровськ, 29-30 квітня 2010 р. Заочна форма участі.
6. X Український біохімічний з'їзд Одеса, 13-17 вересня 2010 р. Очна
7. Міжнародна науково-практична конференція «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования» Курськ, Россия, 31 марта – 1 апреля 2011 р. Заочна форма участі.
8. VI Всеукраїнська студентська наукова конференція «Сучасні проблеми природничих наук» Ніжин, 5-6 квітня 2011 р. Заочна форма участі.
9. NATO Advanced research workshop (ARW) “Environmental and food security and safety in southeast Europe and Ukraine” Dnepropetrovsk, 15-19 may 2011 р. Очна форма участі.

10. II Міжнародна конференція студентів, аспірантів та молодих учених «Фундаментальні та прикладні дослідження в біології». Донецьк, 19-22 вересня 2011 р. Очна форма участі.
11. X Міжнародна наукова конференція студентів та молодих науковців «Шевченківська весна». Київ, 19-23 березня 2012 р. Очна форма участі.
12. VIII Міжнародна наукова конференція студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології». Львів, 3-6 квітня 2012 р. Заочна форма участі.
13. VIII всеукраїнська студентська наукова конференція «Сучасні проблеми природничих наук». Ніжин, 17-18 квітня 2013 р. Заочна форма участі.
14. Друга Міжнародна наукова конференція «Актуальні проблеми сучасної біохімії та клітинної біології». Дніпропетровськ, 24-25 вересня 2013 р. Очна форма участі.
15. XI Український біохімічний конгрес. Київ, 6-10 жовтня 2014 р. Заочна форма участі.
16. XI Міжнародна наукова конференція студентів і аспірантів «Молодь і поступ біології». Львів, 20-23 квітня 2015 р. Очна форма участі.
17. III Міжнародний форум студентів, аспірантів і молодих учених. Дніпропетровськ, 23-24 квітня 2015 р. Заочна форма участі.

## ДОДАТОК 2

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Тернопольського державного

медичного університету імені

І. Я. Горбачевського

Заслужений діяч науки і техніки

України,

Д. б. н., проф..



І. М. КЛІЩ

2018

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція щодо впровадження: вплив системи Реній-платина на інтенсивність оксидативного стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку карциноми Герена.
2. Установа-розробник: Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», кафедра медичної біології, фармакогнозії та ботаніки, дисертант – Шамелашвілі Карина Леонідівна.
3. Джерело інформації: матеріали кандидатської дисертації. Результати оприлюднені у статті: «Changes in oxidative stress intensity in blood of tumor-bearing rats following different modes of administration of rhenium-platinum system» Ukrainian Biochemical Journal. 2016.V. 88, № 4. P. 29-39.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Тернопольський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського, кафедра фармакології з клінічною фармакологією
5. Термін впровадження – 2017-2018 навчальні роки.
6. Форма впровадження: матеріали використовуються у наукових дослідженнях кафедри.

Відповідний за впровадження:

завідувач кафедри

фармакології з клінічною фармакологією

д-р мед. наук, професор

О. М. Олещук

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи

Львівського національного  
медичного університету імені Данила

Галицького

Д.м.н., проф.



А. Й. НАКОНЕЧНИЙ

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2018

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Пропозиція щодо впровадження вплив системи Реній-Платина на інтенсивність оксидативного стресу та активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена.
2. Установа-розробник: Державний заклад «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України», кафедра медичної біології, фармакогнозії та ботаніки, дисертант – Шамелашвілі Карина Леонідівна.
3. Джерело інформації: матеріали кандидатської дисертації. Результати оприлюднені у статті: «Біохімічні характеристики крові щурів з резистентною карциномою Герена за введення протипухлинної системи Реній-Платина» Вісник проблем біології та медицини. 2017. Вип. 1, (135). С. 124-131.
4. Базова установа, яка проводить впровадження: Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра біологічної хімії.
5. Термін впровадження – 2017-2018 навчальні роки.
6. Форма впровадження: матеріали використовуються у наукових дослідженнях кафедри.

Відповідний за впровадження:

Завідувач кафедри  
біологічної хіміїд. м.н., заслужений професор Львівського  
національного медичного університету  
імені Данила Галицького,  
академік УАН

О.Я. Скліаров.