

АНТИОКСИДАНТНІ ВЛАСТИВОСТІ КЛАСТЕРНИХ СПОЛУК РЕНІЮ ТА ЇХ ВПЛИВ НА ЕРИТРОПОЕЗ ЩУРІВ ІЗ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА

Ю. С. ВОРОНКОВА¹, С. О. БАБІЙ², Л. В. ІВАНСЬКА²,
О. В. ШТЕМЕНКО³, Н. І. ШТЕМЕНКО¹

¹Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара, Україна;

²КЗ «Міська багатoproфільна клінічна лікарня № 4 Дніпропетровської
обласної ради», Клініко-діагностична лабораторія, Україна;

³Український державний хіміко-технологічний університет, Дніпропетровськ;
e-mail: yuliya_v@inbox.ru

Досліджено біохімічні характеристики функцій нирок, клітинний склад периферичної крові та кісткового мозку щурів на моделі пухлинного росту за введення цисплатину та цис-тетрахлороди-μ-ізобутиратодиреній (III), $cis-Re_2(i-C_3H_7COO)_2Cl_4$ (I). Показано виражений нефропротекторний ефект I як за введення окремо, так і в системі реній–платина, який виявляється у збільшенні фільтраційної здатності нирок, зниженні біохімічних маркерів окислення ліпідів і протеїнів у нирковій тканині та зниженні ензимурії під час розвитку пухлини. Поряд з цим показано нормалізацію морфологічної картини кісткового мозку з одночасним підвищенням кількості еритроцитів (на 60%) і рівня гематокриту в крові та зниженням рівня патологічних форм еритроцитів (в 3,2 раза) порівняно із групою щурів-пухлиноносіїв. Запропоновано ймовірну схему впливу кластерної сполуки ренію на процеси еритропоезу в кістковому мозку через регуляцію синтезу еритропоетину в нирках.

Ключові слова: кластерні сполуки ренію, цисплатин, еритропоез, кістковий мозок, нирки.

Раніше нами було показано, що кластерні сполуки ренію мають властивості пригнічувати ріст карциноми Герена за індивідуального введення їх у наноліпосомній формі та, що особливо ефективно, у складі протипухлинної системи реній–платина (система Re-Pt) [1, 2]. Для деяких кластерних сполук ренію з карбоксилатними лігандами було показано здатність до зниження токсичності цисплатину щодо стану печінки і нирок у моделі канцерогенезу [3, 4]. Особливої уваги заслуговує антигемолітична активність сполук ренію [5, 6]. На нашу думку, механізм антигемолітичної активності цих сполук у моделі канцерогенезу базується не стільки на мембранотропній активності їх щодо стабілізації мембрани еритроцитів [7], а й зачіпає процес еритропоезу в кістковому мозку через підтримку біосинтетичної активності нирок, де відбувається синтез еритропоетину [8].

Отже, метою роботи була розробка підходу до вивчення можливого зв'язку між біохімічними процесами, що відбуваються в нирках і

кістковому мозку і значно порушуються за розвитку новоутворень, а також у разі застосування токсичних цитостатиків. Дослідження включало вивчення одночасно фільтраційної функції нирок, ензимурії, інтенсивності окислативного стресу, деяких біохімічних характеристик тканини нирок і стану еритропоезу.

Матеріали і методи

Цис-тетрахлороди-μ-ізобутиратодиреній (III) – (I) та наноліпосоми: сполуки ренію і цисплатину одержували за [1].

У роботі використовували щурів лінії Вістар масою 100–150 г, яких утримували в стандартних умовах віварію. Експерименти на тваринах проводили відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, використаних в експериментальних та інших наукових цілях». Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації здоровим щурам 20%-ї суспензії клітин карциноми Герена (T8) у фізіологічному розчині. Введення системи Re-Pt здійснювали за [4].

Тварин було поділено на 5 груп по 10 тварин у кожній групі: тварини, яким вводили ненавантажені наноліпосоми – група контроль; щури-пухлиноносії, яким вводили ненавантажені наноліпосоми – група T8; щури-пухлиноносії, яким вводили одноразово розчин цисплатину в дозі 8 мг/кг на 9-ту добу після трансплантації пухлини – група T8+cPt; щури-пухлиноносії, яким вводили сполуку ренію в наноліпосомах (nl) десятикратно в дозі 7 мкг/кг, починаючи із 3-ї доби після трансплантації пухлини через добу – група T8+I; щури-пухлиноносії, яким вводили наноліпосомну систему Re-Pt (наноліпосоми, навантажені цисплатином і дослідженою сполукою ренію в молярному співвідношенні 1 : 4) за тією самою схемою, як і в попередній групі – група T8+[cPt+I(1:4)]nl. На 21-й день після трансплантації пухлини тварин декапітували під етерним наркозом.

Концентрацію ТБК-активних продуктів у нирках визначали за допомогою стандартної реакції з тіобарбітуровою кислотою [9]. Тіолдисульфідний коефіцієнт (ТДК) у нирках розраховували як співвідношення концентрації відновлених тіолів до концентрації дисульфідів, які визначали за допомогою якісної реакції з 5'-дитіобензойною кислотою [10]. Концентрацію гемоглобіну, креатиніну та активність лактатдегідрогенази (ЛДГ, 1.1.1.27) встановлювали за стандартними методиками з використанням тест-наборів фірми Філісіт-Діагностика (Україна); кліренс креатиніну – за раніше описаною методикою [11]. Дослідження кількості еритроцитів, патологічних форм еритроцитів проводили за допомогою світлової мікроскопії [12]. Пунктат кісткового мозку отримували за [13]. Досліджували та фотографували відбитки кісткового мозку під мікроскопом Zeiss

«PrimoStar» фотокамерою DCM500 (збільшення $\times 1000$).

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Excel, використовуючи *t*-критерій Стьюдента. Вірогідним вважали результат, якщо $P < 0,05$ [14].

Результати та обговорення

Результати попередніх досліджень показали, що розвиток новоутворення і введення щурам цисплатину характеризується посиленою продукцією азотовмісних метаболітів та їх накопиченням у крові [4]. У наших експериментах це підтверджувалось збільшенням концентрації креатиніну в плазмі крові щурів-пухлиноносіїв на 31,7% порівняно з контролем (табл. 1).

За введення досліджуваної кластерної сполуки ренію щурам-пухлиноносійм концентрація креатиніну в крові знижувалась у 1,4 раза, а за введення протипухлинної системи реній-платина – в 1,3 раза порівняно із групою T8+cPt. Це вказує на позитивний вплив кластерних сполук ренію на процеси метаболізму азотовмісних сполук в організмі, які порушуються розвитком новоутворення і введенням цисплатину.

Відомо, що пухлинний ріст і введення щурам цисплатину призводить до ушкодження ниркової тканини з наступним порушенням гломерулярної фільтрації [4, 15, 16]. Було показано, що за введення кластерних сполук ренію як окремо, так і разом із цисплатином, показники відносної реабсорбції і кліренсу води в щурів-пухлиноносіїв були на рівні контрольних значень, на відміну від показників груп T8 і T8+cPt, що підтверджує здатність сполук ренію до підтримки гломерулярної та каналцевої функції нирок у цій моделі. В

Таблиця 1. Концентрація та кліренс креатиніну в плазмі крові щурів ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи	Концентрація креатиніну в плазмі, мкМ	Кліренс креатиніну, мкл/хв
Контроль	$112,19 \pm 4,80$	$998,00 \pm 52,60$
T8	$137,98 \pm 5,65^{\#}$	$931,31 \pm 57,38$
T8+cPt	$164,25 \pm 5,89^{*,\#}$	$788,20 \pm 55,22^{*,\#}$
T8+[I]nl	$118,33 \pm 8,12^{*,**}$	$1022,33 \pm 19,55^{**}$
T8+[cisPt+I(1:4)]nl	$124,64 \pm 4,46^{**}$	$989,12 \pm 16,34^{**}$

Тут і в табл. 2–4 вірогідно за $^{\#}P < 0,05$ порівняно з контрольною групою; $^*P < 0,05$ порівняно із групою T8; $^{**}P < 0,05$ порівняно із групою T8+cPt

Таблиця 2. Активність лактатдегідрогенази в гомогенаті нирок і сечі щурів, ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи	Активність ЛДГ в гомогенаті нирок, ммоль/год · мг протеїну	Активність ЛДГ в сечі, ммоль/год · л
Контроль	9,63 ± 1,35	15,05 ± 2,51
T8	27,99 ± 2,17 [#]	22,90 ± 0,91 [#]
T8+cPt	29,71 ± 1,16 [#]	38,59 ± 2,97 ^{*,#}
T8+[I]nl	10,59 ± 1,00 ^{***}	16,45 ± 1,24 ^{***}
T8+[cisPt+I (1:4)]nl	15,31 ± 0,33 ^{***}	11,78 ± 2,37 ^{*,***}

експериментах, що обговорюються, за введення пухлиноносіям досліджуваної кластерної сполуки ренію також спостерігали нормалізацію значень кліренсу креатиніну, що свідчить про збереження вищезазначених функцій нирок у дослідних тварин.

За розвитку пухлини і введенні цисплатину відмічалось збільшення активності ЛДГ у нирковій тканині в середньому в 3,0 рази порівняно з контролем (табл. 2).

Збільшення лактатдегідрогеназної активності може бути пов'язано зі зсувом від аеробного до анаеробного метаболізму й ілюструє наявність значних порушень енергетичного метаболізму в цій групі тварин.

У наших експериментах за розвитку пухлини активність ЛДГ в сечі збільшувалась в 1,52 раза, а за введення цисплатину – в 2,6 раза порівняно з контрольною групою.

Підвищення ЛДГ-активності в тканині нирок під впливом ушкоджуючих факторів може бути пояснено збільшенням інтенсивності анаеробних процесів, що притаманно тканинам пухлиноносіїв [19, 20]. Введення сполук ренію та системи реній–платина значно знижує цей вплив, що відбивається на значному (майже втричі) зниженні ЛДГ-активності в гомогенаті нирок щурів із пухлинами. У разі збільшення проникності плазматичної мембрани нефроцитів

внаслідок інтенсивного оксидативного стресу в тканині нирок [4, 19] відбувається інтенсивне вимивання ЛДГ в сечу, що ми спостерігаємо в наших експериментах за розвитку пухлини і введення цисплатину (збільшення активності ЛДГ в сечі до 2,5 раза порівняно з контролем). Введення кластерних сполук ренію призводило до гальмування цього процесу і до практично нормального рівня ЛДГ в сечі експериментальних тварин. Одним із вірогідних пояснень коригуючого впливу ренієвих сполук може бути їхня здатність до гасіння радикальних процесів, зокрема ПОЛ у тканинах печінки, нирок і крові щурів, що було встановлено раніше [3, 4, 20] і підтверджено нами (табл. 3)

Дійсно, розвиток пухлини і введення цисплатину значно підсилювало інтенсивність ПОЛ (в 4,2 і 6,4 раза відповідно) і знижувало значення ТДК (в 4,3 і 12,3 раза відповідно); а введення сполуки ренію в наноліпосомах знижувало процеси ПОЛ у 3,5 раза і підвищувало ТДК – в 3,8 раза порівняно із групою T8. Максимальний ефект гальмування оксидативного стресу встановлено за введення протипухлинної системи реній–платина. В цій групі інтенсивність ПОЛ знижувалась в 12,0 разів, а окислення тіолів – в 15,0 разів порівняно з групою T8+cPt.

За дослідження впливу таких антиоксидантів, як вітаміни С і Е, елагінова

Таблиця 3. Показники оксидативного стресу в тканині нирок щурів, ($M \pm m$, $n=10$)

Групи	Концентрація ТБК-активних продуктів у гомогенаті нирок, нмоль/г протеїну	Тіолдисульфідний коефіцієнт у гомогенаті нирок
Контроль	29,35 ± 2,15	1,60 ± 0,09
T8	125,00 ± 2,61 [#]	0,37 ± 0,06 [#]
T8+cPt	187,50 ± 0,97 [#]	0,13 ± 0,01 ^{*,#}
T8+[I]nl	35,94 ± 1,27 ^{***}	1,42 ± 0,04 ^{***}
T8+[cPt+I(1:4)]nl	15,61 ± 1,80 ^{***}	1,98 ± 0,17 ^{***}

кислота, аміногуанідин, на зниження окисних процесів, спричинених введенням цисплатину, ефект також був низьким і не перевищував 40% [21–25]. Але щодо кластерних сполук ренію, то ми спостерігаємо зростання ефективності антиоксидантної функції їх зі зростанням інтенсивності окисативного стресу в тканині.

Нещодавно нами було показано, що у присутності АФК процес взаємодії (розщеплення) ДНК із кластерною сполукою ренію відбувається значно інтенсивніше, ніж за їх відсутності [19]. Це дало підставу віднести кластерні сполуки ренію до сполук, що активуються радикальним вибухом у клітині. Одержані дані в цій роботі підтверджують наше попереднє припущення та є ще одним з аргументів до віднесення кластерних сполук ренію до так званих «про-ліків» (“pro-drugs”) [27], які виконують антиоксидантні функції тим ефективніше, чим більшим є інтенсивність окисативного стресу.

Унікальність сполуки ренію полягає в наявності антиоксидантних властивостей, які залежать від ступеня вільнорадикальних процесів, зумовлених розвитком пухлини та посилені введенням цисплатину. Завдяки цій властивості кластерні сполуки ренію здатні ефективніше гальмувати окисні процеси в нирковій тканині і знижувати негативний вплив пухлини та цисплатину на нефроцити, зберігаючи нормальне функціонування нефронів.

В цих самих експериментальних групах знайдено зниження рівня гематокриту на 13%, кількості еритроцитів на 32% та зростання (майже в п'ятеро) кількості патологічних форм еритроцитів у щурів-пухлиноносіїв порівняно з контролем (табл. 4).

Введення цисплатину ще більше знижувало рівень гематокриту (на 25,3%) порівняно з групою

T8 та знижувало загальну кількість еритроцитів (на 40%) порівняно з контрольною групою, що може свідчити про підвищення руйнації еритроцитів у кров'яному руслі і/або зниження продукції еритроцитів у кістковому мозку, що є характерним для розвитку анемічного стану [6, 28–31]. Дослідження морфологічної картини крові виявило підвищення рівня патологічних форм еритроцитів у 6 разів порівняно з контролем. Спостерігалася велика кількість мікроцитів, макроцитів, еритроцитів зміненої форми та їх уламки.

Введення сполуки ренію, навіть разом із цисплатином, сприяло нормалізації рівня гематокриту та зменшенню кількості патологічних форм у крові щурів-пухлиноносіїв. Одержані експериментальні дані щодо нормалізації стану червоної крові в щурів із пухлиною спостерігалися для більшості кластерних сполук ренію, що пояснювалося нами антиоксидантними функціями четвертого зв'язку [2, 5].

Наступним етапом дослідження був аналіз еритроцитарного росту в дослідних щурів. У низці робіт, присвячених дослідженню ролі порушень кровотворення в кістковому мозку в розвитку анемії за канцерогенезу було показано стан депресії еритроїдного росту в тварин із перещеплюваними пухлинами, на що вказувало зниження кількості еритроїдних клітин-попередників [32–36]. За розвитку карциносаркоми Уокер-256 та гепатохолангіоми РС-1 щурів виявлено вірогідне зниження кількості еритро- і нормобластів [37].

У наших експериментах показано, що під час розвитку новоутворення знижується індекс дозрівання еритрокаріоцитів (ІДЕ) на 15,6% порівняно з контролем (табл. 5, рис. 1 (I)).

Еритропоез має нормобластичний характер, переважають клітини з ядром. Зафіксовано

Таблиця 4. Рівень гематокриту, загальна кількість еритроцитів та патологічні форми еритроцитів у щурів-пухлиноносіїв, ($M \pm m$, $n = 10$)

Групи	Рівень гематокриту, %	Еритроцити	
		Загальна кількість, $\times 10^{12}/л$	Патологічні форми, %
Контроль	$45,32 \pm 0,56$	$6,71 \pm 1,6$	$11,70 \pm 2,16$
T8	$39,20 \pm 1,12^{\#}$	$4,51 \pm 1,93^{\#}$	$58,96 \pm 4,54^{\#}$
T8+cPt	$25,34 \pm 1,65^{*}$	$4,03 \pm 0,55^{\#}$	$28,65 \pm 3,98^{\#,*}$
T8+[I]nl	$46,37 \pm 1,31^{**}$	$6,62 \pm 1,04^{***}$	$14,61 \pm 0,83^{*}$
T8+[cPt + I (1:4)]nl	$44,65 \pm 2,07^{**}$	$7,83 \pm 1,72^{***}$	$4,02 \pm 0,94^{***}$

Таблиця 5. Показники стану еритроїдного ростка щурів-пухлиноносіїв, ($M \pm m$, $n = 10$)

Група	Еритро- бласти, %	Нормобласти, %			ІДЕ, %
		базофільні	поліхромато- фільні	оксифільні	
Контроль	$2,10 \pm 0,83$	$13,00 \pm 2,34$	$18,00 \pm 3,11$	$5,00 \pm 1,54$	$0,640 \pm 0,007$
T8	$3,20 \pm 0,71$	$11,00 \pm 2,21$	$13,00 \pm 2,35$	$2,00 \pm 0,96$	$0,540 \pm 0,029^{\#}$
T8+cPt	$1,40 \pm 0,43^{*,\#}$	$11,00 \pm 2,20$	$6,00 \pm 0,65^{*,\#}$	$4,00 \pm 1,24^{*,\#}$	$0,470 \pm 0,064^{*,\#}$
T8+I	$2,20 \pm 0,36$	$17,00 \pm 2,86$	$19,00 \pm 1,47$	$2,00 \pm 2,02$	$0,550 \pm 0,028^*$
T8+[cPt+I(1:4)]nl	$2,20 \pm 0,64$	$18,00 \pm 2,90^*$	$25,00 \pm 3,14$	$5,00 \pm 3,14$	$0,625 \pm 0,034^{***}$

Вірогідно: $\#$ відносно контрольної групи ($P < 0,05$), $*$ відносно групи T8 ($P < 0,05$), $**$ відносно групи T8+cPt ($P < 0,05$); ІДЕ – індекс дозрівання еритрокаріоцитів.

велику кількість мегакаріоцитів у вигляді великих клітин із поліморфним гіперсегментованим ядром та широкою зоною цитоплазми, також зафіксовано плазматичні клітини і виражену еозинofilію, яка сягала 11%.

За введення цисплатину показано зниження кількості еритробластів в 2,3 раза порівняно із групою пухлиноносіїв. Відмічено певні зміни в кількості клітин еритропоезу, що виявилось в зниженні поліхроматофільних нормобластів в 2,2 раза порівняно з групою T8 та пригнічення еритроїдного ростка (рис. 1 (II)), які були подібними до дії інших протипухлинних препаратів [38, 39].

Такі зміни є ознакою того, що ці ділянки є найчутливішими до дії цисплатину порівняно з іншими клітинами кісткового мозку. При цьому ІДЕ був нижче на 16% порівняно з групою

T8 і на 27% порівняно з контролем. У низці досліджень показано, що середня тривалість життя еритроцитів у хворих на злоякісні новоутворення знижується у 1,5–2 рази. Поряд із цим зниження продукції клітин червоного ростка може бути пов'язане з еритроїдною гіпоплазією. Зниження вмісту клітин еритроїдного ростка в кістковому мозку може бути спричинене прямим (хлорамфенікол, протівірусні та хіміотерапевтичні засоби) та непрямим (наприклад, фактор некрозу пухлини) впливом застосованої терапії [40–44].

Поряд із цим, за введення кластерної сполуки ренію (рис. 2) відмічено незначні зміни в морфологічній картині клітин еритроїдного ростка; кількість еритробластів знаходилась у межах контрольної групи, помітні поодинокі низькодиференційовані клітини еритроїдного

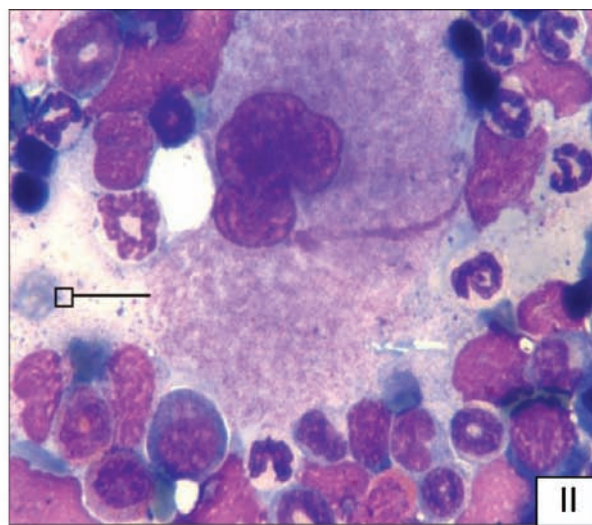
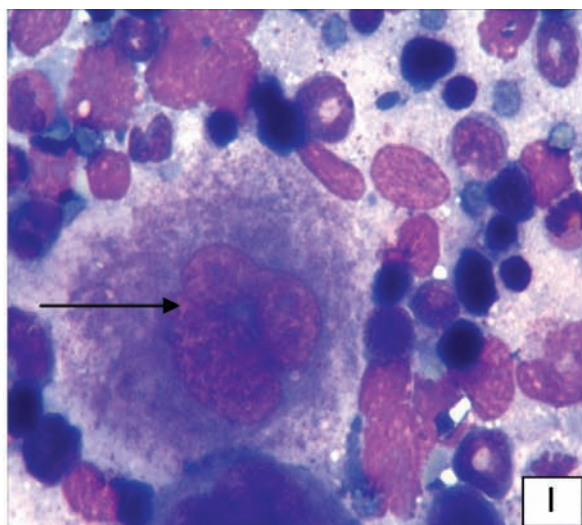


Рис. 1. I – Відбиток кісткового мозку щурів з T8 – (мегакаріоцит) та II – у групах щурів з карциномою Герена, яким вводили цисплатин (T8+cPt) (мегакаріобласт із лопатеvim ядром); збільшення $\times 1000$

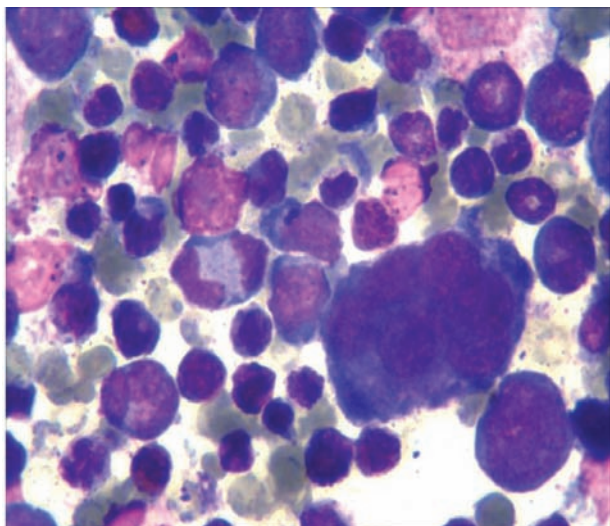


Рис. 2. Відбиток кісткового мозку щурів з карциномою Герена (група T8+I; збільшення $\times 1000$)

ряду та мегакаріоцити. У разі введення протипухлинної системи реній–платина показано нормалізацію рівня еритробластів, ІДЕ підвищувався на 15,7% порівняно з групою T8 та на 32,9% порівняно з групою T8+cPt.

Нами запропоновано можливу схему впливу кластерної сполуки ренію на функціональний і біохімічний стан нирок, систему червоної крові та вміст еритро- і нормобластів кісткового мозку за розвитку новоутворення та застосування цитостатичної терапії (рис. 3). Пухлинний

ріст спричинює інтенсивне накопичення АФК в крові [2, 5].

АФК, потрапляючи із кровотоком до нирок, спричинюють інтенсивний процес пероксидного окислення ліпідів (підвищення концентрації ТБК-активних продуктів) та окислення протеїнів (зниження ТДК). На рис. 3, А представлено схематичне зображення каналця нирок, де внаслідок збільшення концентрації АФК та інтенсифікації ПОЛ відбувається порушення плазматичних мембран і цитоліз клітин. Ці процеси підсилюються також гіпоксією, зумовленою анемічним станом за пухлинного росту. Під час розвитку гіпоксії в нирках відбувається зсув до анаеробного гліколітичного процесу і посиленої експресії ЛДГ [47], що підтверджується представленими даними щодо активності цього ензиму в тканинах нирок. Наслідком цитолітичного процесу, який посилюється розвитком новоутворення і введенням цисплатину, відбувається вихід ензиму в сечу.

Оскільки центральну роль у процесі дозрівання еритроцитів відіграє гормон еритропоетин (ЕПО), основним місцем продукції якого є кортекс нирок, на нашу думку, розвиток оксидативного стресу може призводити до порушення синтезу цього гормону, про що свідчать окремі роботи [46–49]. За дефіциту ЕПО порушується процес еритропоезу, що підтверджується нашими експериментальними даними дослідження

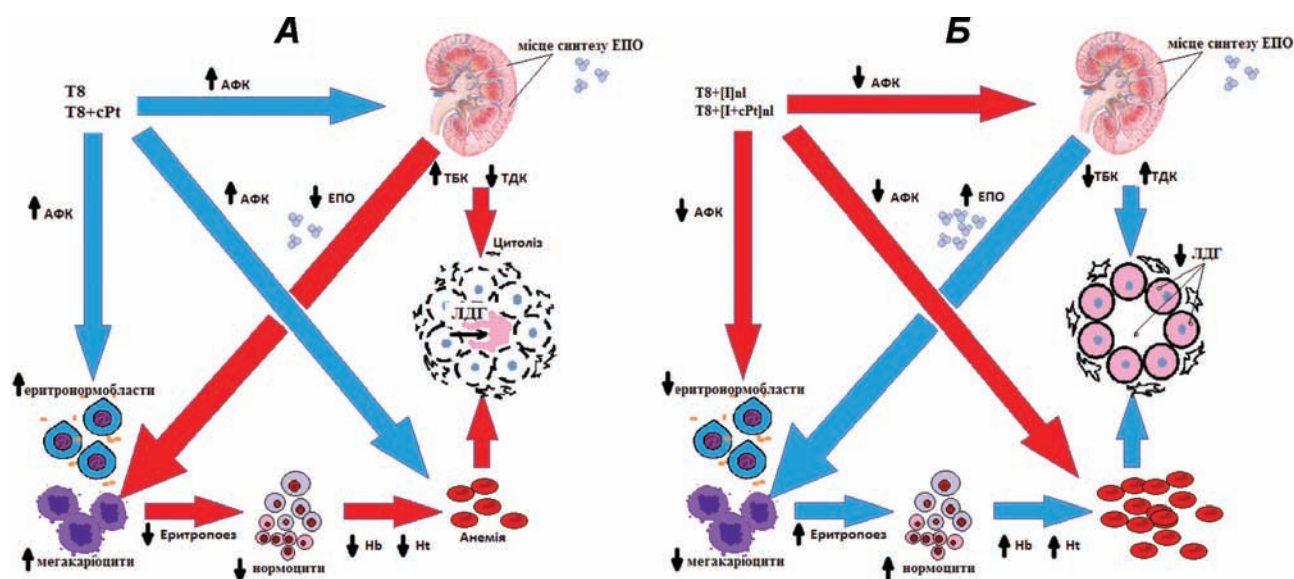


Рис. 3. Схема впливу кластерної сполуки ренію на функціональний і біохімічний стан нирок, систему червоної крові та вміст еритро- і нормобластів кісткового мозку (А – за розвитку новоутворення та введення цисплатину, Б – за введення кластерної сполуки ренію)

кісткового мозку і морфологічної картини крові. Спостерігається пригнічення утворення всіх форм нормобластів зі зниженням ІДЕ, що призводить до зниження кількості зрілих еритроцитів на фоні збільшення їх патологічних форм, зниження рівня гемоглобіну і гематокри-ту.

Кластерні сполуки ренію, що містять чет-верний зв'язок, здатні знижувати окисні про-цеси в нирках, що підтверджується знижен-ням концентрації ТБК-активних продуктів і збільшенням ТДК в нирковому гомогенаті (рис. 3, Б). Крім цього, зниження окисних процесів у нирках за розвитку пухлини і вве-дення ренієвих комплексів можна поясни-ти їхньою протипухлинною активністю їх і значною редукцією пухлини, що було описа-но в попередніх роботах [5, 19, 50]. Таким чи-ном, ці сполуки здатні стабілізувати мембрани нефроцитів у ділянках синтезу ЕПО, на що вказує зниження активності ЛДГ у нирковій тканині та сечі, що може підтримувати гормонсинтезуючу функцію нирок. Отже, спостерігається нормаль-на морфологічна картина кісткового мозку з од-ночасним підвищенням кількості еритроцитів, гемоглобіну та гематокри-ту в крові.

Таким чином, кластерні сполуки ренію мають виражений нефропротекторний ефект, який виявляється в збільшенні фільтраційної здатності нирок, зниженні біохімічних маркерів окислення ліпідів і протеїнів у нирковій тканині та зниженні ензимурії під час розвитку пухлини. Одночасно з цим спостерігається нормалізація показників системи червоної крові і кісткового мозку. Запропонована схема описує можливий механізм впливу кластерних сполук ренію на процеси еритропоезу в кістковому мозку через регуляцію синтезу ЕПО в нирках, що дає змогу пояснити антианемічні властивості цих сполук, виявлені в наших дослідженнях.

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА КЛАСТЕРНЫХ СОЕДИНЕНИЙ РЕНИЯ И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ЭРИТРОПОЭЗ КРЫС С КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА

Ю. С. Воронкова¹, С. А. Бабий¹,
Л. В. Иванская², А. В. Штеменко³,
Н. И. Штеменко¹

¹Днепропетровский национальный университет
имени Олеся Гончара, Украина;

²КЗ «Городская многопрофильная клиническая
больница № 4 Днепропетровского областного
совета», Клинико-диагностическая
лаборатория, Украина;

³Украинский государственный химико-
технологический университет, Днепропетровск;
e-mail: yuliya_v@inbox.ru

Исследованы биохимические характери-стики почек, клеточный состав перифериче-ской крови и костного мозга крыс на модели опухолевого роста при введении цисплатина и цис-тетрахлориди-μ-изобутиратодирений (III), $cis-Re_2(i-C_3H_7COO)_2Cl_4$ (I). Показан выраже-ный нефропротекторный эффект I как и при введении отдельно, так и в системе рений-платина, который проявляется в увеличении фильтрационной способности почек, снижении биохимических маркеров окисления липидов и протеинов в почечной ткани и снижении энзи-мурии при развитии новообразования. Также показано нормализацию морфологической кар-тины костного мозга с одновременным увеличе-нием количества эритроцитов (на 60%), повыше-нием уровня гематокрита и снижением уровня патологических форм эритроцитов (в 3,2 раза) по сравнению с группой животных-опухолесто-ителей. Предложена возможная схема влияния кластерного соединения рения с четверной свя-зью на процесс эритропоеза в костном мозгу пу-тём регуляции синтеза эритропоэтина в почках.

Ключевые слова: кластерные соеди-нения рения, цисплатин, эритропоез, костный мозг, почки.

ANTIOXIDANT PROPERTIES OF CLUSTER RHENIUM COMPOUNDS AND THEIR INFLUENCE OF ERYTHROPOIESIS OF RATS WITH GUERIN CARCINOMA

Y. S. Voronkova¹, S. O. Babiy¹, L. V. Ivans'ka²,
O. V. Shtemenko³, N. I. Shtemenko¹

¹Oles Honchar Dnipropetrovsk
National University, Ukraine;

²Municipal Institution Dnipropetrovsk Polyprofile
Clinical Hospital N 4 of Dnipropetrovsk Region
Council, Clinic Diagnostic Laboratory, Ukraine;

³Ukrainian State University of Chemical
Technology, Dnipropetrovsk;
e-mail: yuliya_v@inbox.ru

Biochemical characteristics of kidneys, peripheral blood and bone marrow of rats in model of tumor growth under introduction of cisplatin and cis-tetrachlorodi-μ-isobutyrate dirhenium(III), cis-Re₂(i-C₃H₇COO)₂Cl₄ (**I**) have been investigated. It was shown that introduction of **I** alone and together with cisplatin led to decrease of biochemical markers of oxidation of lipids and proteins in tissue homogenates of the kidneys, change of enzyme activity in the urea and tissue homogenates of the kidneys, by a decrease of filtration function of kidneys. Introduction of nanoliposomal forms of the rhenium cluster compound led to a practically normal morphological picture of bone marrow and increase of the RBC (by 60%) with normalization of hematocrit counts, and decrease of quantities of destructed RBC (3.2 times) in comparison with the tumor-bearing animals. A tentative scheme of influence of cluster rhenium compound on erythropoiesis through regulation of synthesis of erythropoietin in kidneys has been proposed.

Key words: cluster rhenium compounds, cisplatin, erythropoiesis, bone marrow, kidney.

References

1. Shtemenko N. I., Berzenina O. V., Yegorova D. E., Shtemenko A. V. Liposomal forms of rhenium cluster compounds: enhancement of biological activity. *Chem. Biodiversity*. 2008;5:1660-1667.
2. Leus I. Superoxide dismutase activity and oxidative stress intensity upon application of rhenium cluster compounds with alkyl ligands as antitumor therapeutics / I. V. Leus: Manuscript. K., 2012. 21 p. (In Ukrainian).
3. Ivchuk V. V., Polishko T. N., Golichenko O. A., Shtemenko O. V., Shtemenko N. I. Influence of antitumor system Rhenium-Platinum on biochemical state of the liver. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2011;83(3):83-91. (In Ukrainian).
4. Babiy S. A., Loskutova T. F., Shtemenko N. I. Changes of the state of rat kidneys under Guerin carcinoma development and use of cytostatics. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2012;84(3):48-56. (In Ukrainian).
5. 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. *Ukr. Biokhim. Zhurn.* 2012;84(3):87-96. (In Ukrainian).
6. Voronkova Yu. S., Skorik O. D., Shtemenko N. I. Characteristics of the anaemic and hypoglycemia state of blood at the Guerin's carcinoma growth and application of cisplatin and Rhenium cluster compounds at different forms of introduction. *Med. Chem.* 2012;14(2):18-25. (In Ukrainian).
7. Pyrozhkova-Patalah I. V. Antioxidant and antitumor activity of cluster Rhenium compounds / I. V. Pyrozhkova-Patalah: Manuscript. Charcov, 2001. 21 p. (In Ukrainian).
8. Maxwell A., Lappin T., Johnston C., Bridges J., McGeown M. G. Erythropoietin production in kidney tubular cells. *Br. J. Haematol.* 1990;74(4):535-539.
9. Ohkawa H., Okishi N., Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 1979;95:351-358.
10. Orechovich V. N. The modern methods of biochemistry. M.: Medicine, 1977. 392 p. (In Russian).
11. Babii S. O., D'omshina O. O., Trushenko O. V., Shtemenko N. I. Influence antitumor system Rhenium-Platinum on the renal function in rats model of toxic nephropath. *Visnyk Problem Biol. Med.* 2010;3:94-101. (In Ukrainian).
12. Kozenc G. I., Makarov V. A. Investigation the system of blood in clinic. M.: Triada-X, 1997. 480 p. (In Russian).
13. Il'inskaya I. V. The technique of taking the bone marrow of animals / In Leningrad SRC transfusion of blood. *The topical issues of blood transfusion.* 1958;6:306-309. (In Russian).
14. Lakin G. F. Biometry. M.: The higher school, 1990. 352 p. (In Russian).

15. Rjiba-Touati K., Ayed-Boussema I., Belarbia A., Azzebi A., Achour A., Bacha H. Protective effect of recombinant human erythropoietin against cisplatin cytotoxicity and genotoxicity in cultured Vero cells. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2013;65:181-187.
16. Pather L. Nephrotoxicity as a cause of acute kidney injury in children. *Pediatr. Nephrol.* 2007;39:32-47.
17. Gatenby R. A., Gillies R. J. Why do cancers have high aerobic glycolysis? *Nat. Rev.* 2004;4:891-899.
18. Vazquez A., Liu J., Zhou Y., Oltvai Z. N. Catabolic efficiency of aerobic glycolysis: The Warburg effect revisited. *BMC Systems Biology.* 2010;4:58-67.
19. Shtemenko N. I., Babiy S. A., Chifotides H. T., Domasevitch K. V., Golichenko A. A., Li Z., Paramonova K. V., Shtemenko A. V., Dunbar K. R. Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III). *J. Inorg. Chem.* 2013;129:127-134.
20. Bilenko O., Rudenko M., Leus I., Babiy S., Skorik O., Shtemenko N. Investigation of glutathione system under inhibition of tumor growth. *Visnyk of the Lviv University. Series Biology.* 2013;62:68-74. (In Ukrainian).
21. Kim Y. K., Jung, J. S., Lee S. H., Kim Y. W. Effects of antioxidants and Ca^{2+} in cisplatin-induced cell injury in rabbit renal cortical cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1997;146:261-269.
22. Karaoglu A., Askoy A. O. Selenium and high dose vitamin E administration protects cisplatin-induced oxidative damage to renal, liver and lens tissues in rats. *Toxicology.* 2004;195:221-230.
23. Atessahin A., Yilmaz S., Karahan I., Ceribasi A. O., Karaoglu A. Effects of lycopene against cisplatin-induced nephrotoxicity and oxidative stress in rats. *Toxicology.* 2005;212:116-123.
24. Badary O. A., Abdel-Maksoud S., Ahmed W. A., Owieda G. H. Naringin attenuates cisplatin nephrotoxicity in rats. *Life Sci.* 2005;76:2125-2135.
25. Yüce A., Atessahin A., Ceribasi A. O., Aksakal M. Ellagic acid prevents cisplatin-induced oxidative stress in liver and heart tissue of rats. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2007;101:345-349.
26. Atasayar S., Güreş-Orhan H., Orhan H., Gürel B., Girgin G., Özgüneş H. Preventive effect of aminoguanidine compared to vitamin E and C on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *Exp. Toxicol. Pathol.* 2009;61:23-32.
27. Graf N., Lippard S.J. Redox activation of metal-based prodrugs as a strategy for drug delivery. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 2012;64:993-1004.
28. Dicato M., Plawny L., Diederich M. Anemia in cancer. *Ann. Oncol.* 2010;21:167-172.
29. Gately D., Howell S. Cellular accumulation of the anticancer agent cisplatin: a review. *Br. J. Cancer.* 1993;67:1171-1176.
30. Yilmaz S., Ates E., Tokyol C., Pehlivan T., Erkasap S., Koken T. The protective effect of erythropoietin on ischaemia/reperfusion injury of liver. *HPB (Oxford).* 2004;6:169-173.
31. Hartmann J., Lipp H. Toxicity of platinum compounds. *Expert Opin. Pharmacother.* 2003;4:889-901.
32. Hassserjian R. Reactive versus neoplastic bone marrow: problems and pitfalls. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2008;132:587-594.
33. Oster W., Herrmann F., Gamm H., Zeile G., Lindemann A., Müller G., Brune T., Kraemer H. P., Mertelsmann R. Erythropoietin for the treatment of anemia of malignancy associated with neoplastic bone marrow infiltration. *J. Clin. Oncol.* 1990;8:956-962.
34. Kumar A., Singh S. Effect of cisplatin administration on the proliferation and differentiation of bone-marrow cells of tumor-bearing mice. *Immun. Cell Biol.* 1995;73:220-225.
35. Foucar K. Bone Marrow Pathology. American Society Clinical Pathology; 2nd edition, 2001. 704 p.
36. Lavrova V. S., Chernova E. N., Karpova G. V., Stepovaya E. A. Dysregulatory process in blood system during carcinogenesis. *Bulletin of Siberia Med.* 2006;2:75-83. (In Russian).
37. Chernova E. N. The morphofunctional characteristics of erythron during the growth of transplantable and induced tumors. E. N. Chernova: Manuscript, Tomsk, 1988. 189 p. (In Russian).
38. Prajda N., Kralovanszky J., Gal F., Kiss F., Kerpel-Fronius S. Evaluation of side effects of platinum complexes (CDDP, CBDCA, CHIP) on rat bone marrow. *In Vivo.* 1989;3:267-270.
39. Bäck H., Gustavsson A., Eksborg S., Stig R. Accidental doxorubicin overdosage. *Acta Oncol.* 1995;34:531-537.

40. Lund J. E., Toxicologic effects on blood and bone marrow. *Schalm's Veterinary Hematology*. 2000;5:44-50.
41. Gossett K. Anemias associated with drugs and chemicals. *Schalm's Veterinary Hematology*. 2000;5:185-189.
42. Andrews C., Williams T., Turton J. Long-term haematological alterations in female B6C3F1 mice treated with busulphan. *Comp. Haematol. Int.* 1998;8:125-138.
43. Manyan D., Arimura G. Yunis A. Chloramphenicol-induced erythroid suppression and bone marrow ferrochelatase activity in dogs. *J. Lab. Clin. Med.* 1972;79:137-144.
44. Bloom J., Lewis H. Bone marrow as a target organ: an integrated approach to investigate hematopathology in toxicologic evaluations. *Toxicol. Pathol.* 1990;18:706-707.
45. Schwerdt G., Freudinger R., Schuster C., Weber F., Thews O., Gekle M. Cisplatin-induced apoptosis is enhanced by hypoxia and by inhibition of mitochondria in renal collecting duct cells. *Toxicol. Sci.* 2005;85:735-742.
46. Haase V. Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2010;299:F1-F13.
47. Koury M., Bondurant M.C., Graber S.E., Sawyer S.T. Erythropoietin messenger RNA levels in developing mice and transfer of 125I-erythropoietin by the placenta. *J. Clin. Invest.* 1988;82:154-159.
48. Lundby C. Synthesis, function and possible new avenues for erythropoietin. *J. Physiol.* 2011;589:12-49.
49. Neumcke I., Schneider B., Fandrey J., Pagel H. Effects of pro- and antioxidative compounds on renal production of erythropoietin. *Endocrinology*. 1999;140:641-645.
50. Shtemenko A., Collery P., Shtemenko N., Domasevitch K., Zabitskaya E., Golichenko A. Synthesis, characterization, in vivo antitumor properties of the cluster rhenium compound with GABA ligands and its synergism with cisplatin. *Dalton Trans.* 2009;26:5132-5136.

Отримано 01.04.2014