

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ХАРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ В.Н.КАРАЗІНА

ШАМЕЛАШВІЛІ КАРИНА ЛЕОНІДІВНА

УДК 46.719:54.024:577.151:616-006.69

**РЕГУЛЯЦІЯ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ КРОВІ ЩУРІВ-
ПУХЛИНОНОСІВ ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-
ПЛАТИНА**

03.00.04 – біохімія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у ДЗ «Дніпропетровська медична академія Міністерства охорони здоров'я України» та Дніпровському національному університеті імені Олеся Гончара Міністерства освіти і науки України (м. Дніпро)

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
Штеменко Наталія Іванівна,
Національний ТУ «Дніпровська політехніка»
Міністерства освіти і науки України, м. Дніпро
професор кафедри хімії

Офіційні опоненти: доктор біологічних наук, професор
Столяр Оксана Борисівна,
Тернопільський національний педагогічний
університет імені Володимира Гнатюка
Міністерства освіти і науки України, м. Тернопіль
професор кафедри хімії та методики її навчання

кандидат біологічних наук,
старший дослідник
Жолобак Надія Михайлівна
Інституту мікробіології і вірусології
ім. Д. К. Заболотного
Національної академії наук України, м. Київ
старший науковий співробітник
відділу проблем інтерферону і імуномодуляторів

Захист відбудеться «_____» _____ 2019 р. о _____ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради К 64.051.17 Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4, ауд. 7-26

З дисертацією можна ознайомитись у Центральній науковій бібліотеці Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна за адресою: 61022, м. Харків, майдан Свободи, 4.

Автореферат розісланий _____ 2019 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

М. К. Ковальова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. 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 (Jungwirth U., 2011), а регуляція редокс-стану ракової клітини і малігнізованих тканин відноситься до однієї з найперспективніших стратегій антиракової терапії (Möhler H., 2014; Davis A., 2015). 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 цисплатиною) та вперше продемонстровано потужні антиоксидантні властивості сполук Ренію, які є основою їх гепато-, нефропротекторних властивостей та антигемолітичної активності (Shtemenko N.I., 2017). Нещодавно отримано нові наноліпосоми і тверді наночастки, що містять всередині сполуки Ренію і цисплатин, так звані нанобіни (Li Z., 2014). 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 (Maruf A.A., 2015; Bashri G., 2016). 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 (Bartoszek M., 2006). 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 (Kulik G.J., 2009; Tomas M.L., 2014). 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 (Грабовская О.І., 2014). 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 металопротеїдами (Muscoli C, 2003). 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 окисативного стресу еритроцитів щурів-пухлиноносіїв за введення протипухлинної системи Реній-Платина та її компонентів різними способами є актуальним напрямком сучасної біохімії.

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 анемії» (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).

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 наночастинок, 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.

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 Тернопільського державного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського та Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (підтверджено актами впровадження).

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'їзд (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); Международная научно-практическая конференция «Теоретические и прикладные проблемы современной науки и образования» (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).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 25 наукові роботи, з яких: 7 статей (4 статті у виданнях, які входять до переліку фахових видань України; 2 статті у виданнях, які входять до міжнародної наукової бази Scopus, 1 стаття, яка додатково відображає наукові результати дисертаційної роботи) та 18 тез доповідей у збірниках матеріалів наукових конференцій.

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 сторінки, з них основного тексту – 103 сторінки. Робота ілюстрована 23 таблицями та 16 рисунками. Список використаних джерел містить 191 найменування.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність теми дисертаційної роботи, сформульовано мету і задачі дослідження, наукову новизну та практичну цінність отриманих результатів, наведено відомості про впровадження результатів роботи, наукові публікації та особистий внесок автора.

Огляд літератури. Огляд літератури складається з чотирьох підрозділів, у яких 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 та її спектральні властивості.

Матеріали та методи дослідження. Кластерні сполуки Ренію(III) з органічними лігандами, цисплатин, наночастки і ліпосоми було синтезовано на кафедрі неорганічної хімії УДХТУ (м. Дніпро) (Shtemenko N.I., 2002, 2009, 2015). У роботі використовували наступні біядерні кластерні сполуки Ренію: $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_4\text{Cl}_2$ – дихлоротетра- μ -ізобутиратодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$); *цис*- $\text{Re}_2(\text{i-C}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{ДМСО}$ – біс-диметилсульфоксид-*цис*-тетрахлороди- μ -ізобутиратодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{cis-isobut}}$); *цис*- $\text{Re}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{ДМСО}$ – біс-диметилсульфоксид-*цис*-тетрахлороди- μ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{cis-Adam}}$); *транс*- $\text{Re}_2(\text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{COO})_2\text{Cl}_4$ – *транс*-тетрахлороди- μ -адамантилкарбоксилатодиреній(III) ($\text{Re}_{\text{trans-Adam}}$); *цис*- $\text{Re}_2(\text{Fer})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{ДМСО}$, (де Fer – $\text{HO}_2\text{C}_6\text{H}_3(\text{OCH}_3)\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$ – ферулова кислота) біс-диметилсульфоксид-*цис*-тетрахлороди- μ -ферулатодиреній(III) (Re_{Ferul}); *цис*- $\text{Re}_2(\text{IOK})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{CH}_3\text{CN}$, (де IOK – $(\text{C}_8\text{H}_6\text{N})\text{CH}_2\text{COOH}$ – індолілоцтова кислота) біс-ацетонітрил-*цис*-тетрахлороди- μ -індолилацетатодиреній(III) (Re_{Indol}); *цис*- $[\text{Re}_2(\text{NH}_3\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{COO})_2\text{Cl}_4 \cdot 2\text{ДМСО}]\text{Cl}_2$ – біс-диметилсульфоксид-*цис*-тетрахлороди- μ -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- μ -ацетіламіноадамантилкарбоксилатодиреній(III) (Re_{AcAd}).

Експеримент з вивчення протипухлинної та антиоксидантної активності сполук Ренію проводили на щурах лінії Wistar масою 100-150 г. у стандартних умовах віварію. Пухлинний ріст моделювали шляхом трансплантації щурам 20%-ї суспензії клітин карциноми Герена (Т8) та резистентної до цисплатину карциноми Герена (Т8р) у фізіологічному розчині (Shtemenko N.I., 2013). Донорами ракових

клітин були пухлиноносії, придбані в Інституті експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України безпосередньо перед трансплантацією.

Кластерні сполуки Ренію і цисплатин вводили трьома способами:

1 спосіб – введення окремо сполуки Re. Внутрішньочеревне введення Re 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_{tetraisobut}]sln, T8 + [Re_{tetraisobut}]lip, T8 + [Re_{tetraisobut}]nl, T8 + [Re_{tetraisobut}]np, T8+[Re_{trans-Ad}]nl, T8+[Re_{cis-Ad}]nl, T8+[Re_{NH2Ad}]nl, T8+[Re_{AcAd}]nl, T8+[Re_{Ferul}]nl, T8+[Re_{Indol}]nl). Проводили також десятикратне пероральне (per os) введення такої ж дози Re_{tetraisobut} у формі твердих наночасток розміром 10-100 нм, починаючи з 3 доби після трансплантації пухлини із розрахунку 7 мкмоль/кг, група T8+ [Re_{tetraisobut}]np (per os);

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

3 спосіб – введення системи Re-Pt у вигляді змішаних наноліпосом та наночасток, де обидва цитостатики знаходилися всередині ліпідної нанокapsули. 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_{tetraisobut}+cPt(4:1)]nl, T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]np, T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]np(per os), T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:2)]nl, T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:2)]np T8+[Re_{trans-Ad}+cPt]nl, T8+[Re_{cis-Ad}+cPt]nl, T8+[Re_{NH2Ad}+cPt]nl, T8+[Re_{AcAd}+cPt]nl, T8+[Re_{Ferul}+cPt]nl, T8+[Re_{Indol}+cPt]nl, 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).

На 21 день після трансплантації пухлини проводили декапітацію щурів під етерним наркозом. Терапевтичний ефект сполук у щурів визначали за об'ємом пухлини та ступенем її гальмування. Вплив на антиоксидантну систему крові встановлювали визначенням рівня активності СОД (Чевари С., 1991; Костюк В.А., 1990), активності каталази (Королюк М.Л., 1988, Чевари С., 1991), активності глутатіонпероксидази (Овсяннікова Л.М., 2007) у еритроцитах, використовуючи також метод оцінки вмісту ТБК-активних продуктів у еритроцитах та плазмі крові (Андреева Л.И., 1988). Визначення каталазної активності та спектральні дослідження кластерних сполук диренію(III) і нативної каталази печінки бика (Sigma-Aldrich Inc.) проводили у водних розчинах (Pirmohamed T., 2010; Bartoszek M., 2006) відповідно. Каталазну активність сполук Ренію порівнювали з каталазною активністю розчину каталази, яку приймали за 100%. Спектральні

дослідження проводили у двох діапазонах: 250-280 нм і 320-430 нм на спектрофотометрі СФ-46. Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Excel, використовуючи *t*-критерій Ст'юдента. Вірогідним вважали результати, якщо $P < 0,05$ (Лакин Г.Ф., 1990).

Результати досліджень та їх обговорення

Вплив способу введення кластерної сполуки Ренію і системи Реній-Платина на інтенсивність оксидативного стресу в плазмі та активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за розвитку карциноми Герена. Введення окремо $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ у формах звичайних ліпосом наноліпосом і твердих наночасток (групи $\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}}]\text{sln}$, $\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}}]\text{lip}$, $\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}}]\text{nl}$, $\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}}]\text{np}$) не було ефективним щодо пригнічення росту карциноми Герена, проте, призводило до 2,7-4,6 кратного зниження інтенсивності ПОЛ у плазмі крові порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв, група Т8 (дані не приводяться). Введення системи Re-Pt способом 2 призводило не тільки до значного гальмування росту пухлини, але й до значного зниження (нормалізації) концентрації продуктів ПОЛ (табл. 1).

Таблиця 1

Маса пухлини, інтенсивність ПОЛ у плазмі та активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів щурів за введення $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ ($M \pm m$; $n=8-10$)

Група	Маса пухлини, г	Вміст ТБК-активних продуктів, мкмоль/л	Активність СОД, МО на мг білку	Активність КАТ, Кат/л	Активність ГП, мкМ/хв*мг білку
Контроль	-	$7,69 \pm 0,38$	$7,81 \pm 0,39$	$18,34 \pm 0,91$	$10,00 \pm 0,50$
Т8	$63,27 \pm 3,16$	$52,88 \pm 2,64\#$	$6,71 \pm 0,34\#$	$7,55 \pm 0,38\#$	$5,01 \pm 0,25\#$
Т8+cPt	$17,72 \pm 0,89^{**}$	$21,16 \pm 1,06\#,^{*}$	$22,76 \pm 1,14^{*}$	$12,25 \pm 0,61^{*}$	$4,82 \pm 0,24\#$
$\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}} + \text{cPt}(4:1)]\text{nl}$	$1,38 \pm 0,07^{***}$	$7,53 \pm 0,38^{**}$	$24,87 \pm 1,24^{*}$	$13,27 \pm 0,66^{*}$	$9,61 \pm 0,48^{*}$
$\text{T8} + [\text{Re}_{\text{tetraisobut}} + \text{cPt}(4:1)]\text{np}$	$2,39 \pm 0,12^{****}$	$12,72 \pm 0,64^{**}\#$	$23,91 \pm 1,20^{*}$	$15,47 \pm 0,77^{*}$	$12,83 \pm 0,64^{*}$

Примітка: # – достовірна різниця порівняно з контрольною групою, $p < 0,05$; * – достовірна різниця порівняно групою Т8 $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$; **** – достовірна різниця порівняно групою Т8+cPt, $P < 0,05$

Слід зазначити, що відомі антиоксиданти призводять до зниження інтенсивності ПОЛ за різних патологій максимально у 1,5 -2 рази, а ефективність гальмування процесу ПОЛ сполукою $\text{Re}_{\text{tetraisobut}}$ набагато перевищує ефективність відомих антиоксидантів і досягає чотирьохкратної величини. 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 нанокапсулу (нанобіни) (групи T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]nl, T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]np) не призводило до втрати антиканцерогенних та антиоксидантних властивостей її компонентів (Табл. 1), за виключенням експериментів, де було збільшено кількість цисплатину всередині нанокапсули (групи T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:2)]nl, T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:2)]np) і де вводилися змішані наночастки per os (група T8+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]np(per os), дані не наводяться). Можливість варіювання вмістом цитостатиків всередині нанокапсули, на нашу думку, є значним кроком уперед в напрямку нанотехнологій та комбінаційної терапії у лікуванні раку. Також, наші спостереження вказують на актуальність подальших досліджень з використанням твердих наночасток, навантажених протипухлинними речовинами. Адже відомо, що саме ця лікарська форма є зручною для зберігання і введення медичних препаратів [Raju G., 2015]. Введення системи Реній-Платина та її компонентів призводило до підвищення активності СОД еритроцитів (до 3-х кратної величини) і до зниження активності КАТ (у 1,5 рази) у порівнянні з контролем і підвищення активності СОД (у 3,5 рази) у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв. Слід відмітити, що введення Re_{tetraisobut} не призводило до активації КАТ у порівнянні з контрольною групою. За введення системи Re-Pt (2 та 3 способи) спостерігалось підвищення активності ГП на 22% та 77% порівняно з групою T8. Отже, нормалізація редокс-стану еритроцитів під дією Re_{tetraisobut} за різних форм введення може бути пояснена як активацією СОД, внаслідок чого зменшується концентрація супероксидного аніону, так і активацією ГП, яка призводить до зниження концентрації гідроген пероксиду.

Вплив кластерних сполук Ренію з адамантильними, індолями і ферулатними лігандами і системи Реній-Платина на інтенсивність процесу перекисного окиснення ліпідів та активність ферментів антиоксидантного захисту за розвитку карциноми Герена. За введення кластерних сполук Ренію з адамантильними, індолями і ферулатними лігандами відбувається пригнічення росту пухлини, зниження інтенсивності ПОЛ і підвищення активності СОД (табл. 2), що практично не відрізняється від впливу кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами [Леус, 2012] чи Re_{tetraisobut}.

Таблиця 2

Маса пухлини, концентрація ТБК-активних продуктів та активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів експериментальних тварин за введення сполук Ренію з ферулатними лігандами (M±m; n=8-10)

Групи	Маса пухлини, г	Вміст ТБК-активних продуктів, мкмоль/л	Активність СОД, МО на мг білку	Активність КАТ, Кат/л
1	2	3	4	5
Спосіб 1				
T8+[Re _{Ferul}]nl	1,88±0,09***	7,89±0,39**	39,20±1,96*	19,09±0,96*
Спосіб 2				
T8+[Re _{Ferul}]nl+cPt	0,47±0,02***¥	20,34±1,02*	42,00±2,10*	26,78±1,34*¥#

Продовження таблиці 2

1	2	3	4	5
Спосіб 3				
T8+[Re _{Ferul} +cPt]nl	2,58±0,13***¥	16,80±0,84*¥	49,61±2,46*	25,74±1,29*¥

Примітка: # – достовірна різниця порівняно з контрольною групою, $p < 0,05$; * – достовірна різниця порівняно групою T8 $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$; ¥ – достовірна різниця порівняно групою T8+cPt, $P < 0,05$

Проте, вплив цих сполук, особливо сполуки з ферулатними лігандами, відрізняється тим, що за їхнього введення не тільки разом з цисплатином, а і окремо, відбувається практично повне гальмування росту новоутворення. Висока антиканцерогенна активність сполуки Re_{Ferul} може бути пов'язана з суттєвими антиоксидантними властивостями ферулатних лігандів (рис 1).

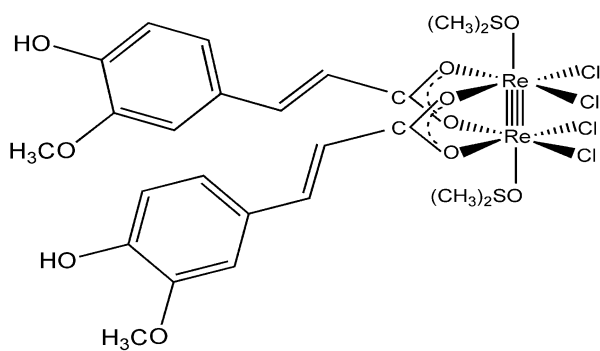


Рис. 1 Біс-диметилсульфоксид-цис-тетрахлориди-μ-ферулатодиреній(III) (Re_{Ferul})

введення кластерних сполук Ренію з біологічно активними лігандами, проте найсуттєвіше підвищення спостерігається за введення цитостатиків способом 2. Іншою відмінністю від впливу кластерних сполук Ренію з алкільними лігандами є значне підвищення активності ГП, особливо характерне для введень сполуки з ферулатними лігандами – в 10-11 разів у порівнянні з групою щурів-пухлиноносіїв (рис 2).

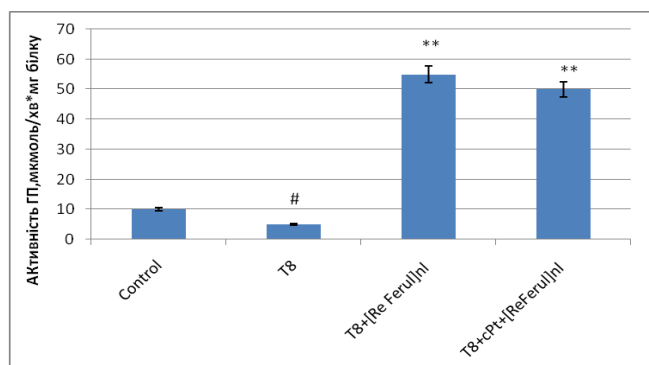


Рис. 2 Активність ГП щурів з карциномою Герена та під впливом сполуки Ренію з ферулатним лігандом, мкмоль/хв.*на мг білку.

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

Якщо раніше вважалося, що антиоксидантні властивості кластерних сполук Ренію обумовлені здебільшого наявністю почверного зв'язку – пастки для радикалів (Shtemenko O. V., 2017), то в цій роботі нами показано вплив природи органічних

лігандів, розташованих в *цис*-положенні навколо кластерного фрагмента диренію(III), на здатність сполук Ренію до регуляції оксидативного стресу, яка виявляється у підвищенні активності ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів.

Активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена та введення цитостатиків. Активність СОД в еритроцитах щурів за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена була вище у 5 разів порівняно з контрольною групою (табл. 3).

Таблиця 3

Активність ензимів антиоксидантного захисту еритроцитів щурів за розвитку резистентної до цисплатину карциноми Герена ($M \pm m$; $n=8-10$)

Групи	Активність СОД, МО на мг білку	Активність КАТ, Кат/л
Контроль	7,81 $\pm$ 1,39	18,34 $\pm$ 0,91
T8	6,71 $\pm$ 0,34	7,55 $\pm$ 0,38
T8p	39,06 $\pm$ 1,95#	25,67 $\pm$ 1,28#
T8p+[cPt]sl	50,78 $\pm$ 2,53#*	29,32 $\pm$ 1,07#*
T8p+[cPt]nl	41,01 $\pm$ 2,05#*	35,83 $\pm$ 5,14#*
T8p+[Re _{tetraisobut} +cPt(4:1)]nl	74,45 $\pm$ 3,72*¥	77,59 $\pm$ 3,88*¥
T8p+[Re _{tetraisobut} +cPt(4:1)]np	50,77 $\pm$ 2,54*¥	74,6 $\pm$ 3,73*¥
T8p+[Re _{Ferul} +cPt(4:1)]nl	76,45 $\pm$ 4,56*¥	79,18 $\pm$ 4,08*¥
T8p+[Re _{Ferul} +cPt(4:1)]np	84,26 $\pm$ 4,78*¥	82,59 $\pm$ 4,82*¥

Примітка: # – достовірна різниця порівняно з контрольною групою, $p < 0,05$; * – достовірна різниця порівняно групою T8 $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$; ¥ – достовірна різниця порівняно групою T8p+[cPt]nl, $P < 0,05$

Розвиток звичайної та резистентної карциноми Герена також по-різному впливає на активність КАТ: для звичайної карциноми характерне пригнічення активності ензиму, а для резистентної, навпаки – активація порівняно з контрольною групою. Такий високий рівень активності антиоксидантних ферментів, що захищають еритроцити щурів-пухлиноносіїв від надлишку супероксидного аніон-радикалу і перекису водню, на нашу думку є важливою особливістю розвитку резистентного до цисплатину штаму карциноми і може бути основою стратегії антиканцерогенної терапії і подолання резистентності пухлин до цитостатиків. Різний відгук ферментативної системи еритроцитів на введення цитостатиків спостерігається за введення системи Re-Pt у формі наноліпосом та наночасток: активність КАТ у 4-4,5 разів більше підвищується в еритроцитах щурів із резистентною карциномою, ніж із звичайною у порівнянні з контролем, особливо за введення системи з ферулатною сполукою. За введення системи Re-Pt з алкільним лігандом активність ГП знижується у всіх дослідних групах: у групах T8p+cPt+[Re_{tetraisobut}]nl та T8p+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]nl – на 34 %, а у групі T8p+[Re_{tetraisobut}+cPt(4:1)]np – на 50 % порівняно з групою пухлиноносіїв (рис. 3.).

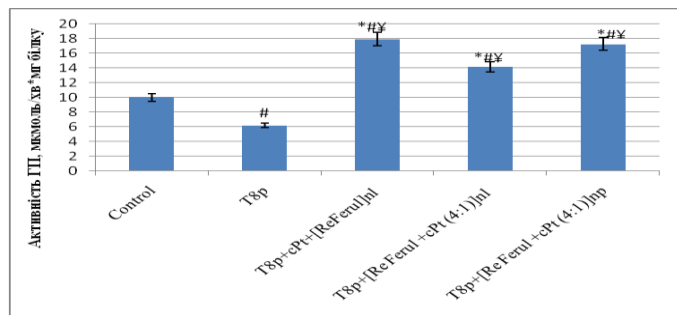


Рис. 3 Активність ГП в еритроцитах шурів з резистентною до цисплатину карциномою Герена за введення системи Реній-Платина зі сполуками Ренію з тетраізобутиратними лігандами. # – $P < 0,05$ відносно контрольної групи, * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ відносно групи T8p. ¥ – $P < 0,05$ відносно групи T8p+[cPt]nl

Проте, введення сполуки Ренію з ферулатними лігандами сприяє підвищенню активності ГП не тільки порівняно з групою T8p, але і з контролем (рис. 4.).

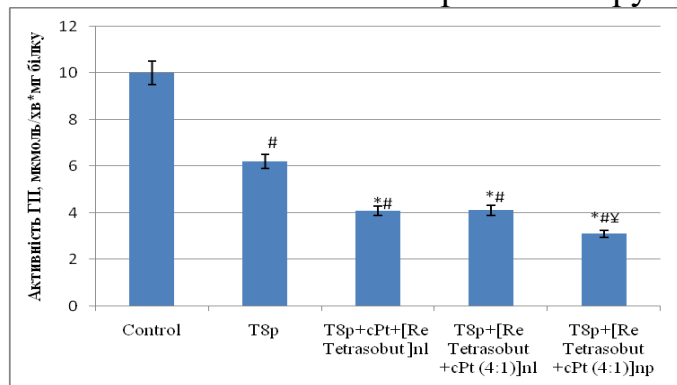


Рис. 4 Активність ГП в еритроцитах шурів з резистентною до цисплатину карциномою Герена за введення системи Реній-Платина зі сполуками Ренію з ферулатними лігандами. # – $P < 0,05$ відносно контрольної групи, * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$; *** – $P < 0,001$ відносно групи T8p. ¥ – $P < 0,05$ відносно групи T8p+[cPt]nl.

У групі T8p+cPt+[Re Ferul]nl активність ГП підвищується у 1,7 рази, у групах T8p+[Re Ferul+cPt (4:1)]nl і T8p+[Re Ferul+cPt (4:1)]np – у 1,4 рази і у 1,7 рази відповідно порівняно з контролем. Тобто, незалежно від форми введення сполук з ферулатними лігандами, активність ГП збільшується майже вдвічі порівняно з контролем та у 3,5-4,5 рази порівняно з групами, де вводили цисплатин. Слід зауважити, що за розвитку обох типів карциноми Герена за введення ферулату диренію(III) спостерігалось підвищення активності ГП, що на нашу думку потребує додаткових досліджень впливу цієї сполуки на систему глутатіонового захисту еритроцитів.

Вплив кластерних сполук Ренію на активність нативної каталази. Дослідження реакції розкладу пероксиду водню показало, що кластерні сполуки Ренію мають власну каталазну активність, яка досягає 40% у порівнянні з нативною каталазою (табл. 4.) і перевищує відомі біоміметики на основі сполук Церію (Pirmohamed, 2010).

Таблиця 4

Каталазна активність комплексів каталаза– Re_{cis-isobut} і каталаза– Re_{AcAd} у різних молярних співвідношеннях, у відсотку до активності нативного ферменту у концентрації 10^{-6} М

Молярне співвідношення каталаза : сполука Ренію	Активність комплексів, %	
	каталаза - Re _{cis-isobut}	каталаза - Re _{AcAd}
1	2	3

Продовження таблиці 4

1	2	3
1 : 1	321,78 ±16,08	251,27 ±12,56
1 : 2	277,55 ±13,88	323,71 ±16,19
1 : 3	200,63 ±10,03	256,40 ±12,82
1 : 4	228,20 ±11,41	344,86 ±17,24
1 : 5	325,63 ±16,28	386,53 ±19,32
1 : 10	346,80 ±17,33	389,45 ±19,47

Кластерні сполуки Ренію взаємодіють з нативною каталазою, утворюючи комплекси, які перевищують активність каталази у 2-4 рази. Відомо, що сполуки Ренію таких структурних типів приєднуються до залишків гістидину у молекулах білків (Леус І.В., 2012). Отже, у наших експериментах приєднання кластерних сполук Ренію(III) до гістидинових залишків каталази призводило до активації роботи ферменту.

Спектр нативної каталази та суміші зі сполукою Ренію у області поглинання білкових ароматичних кислот представлений на рис. 5а.

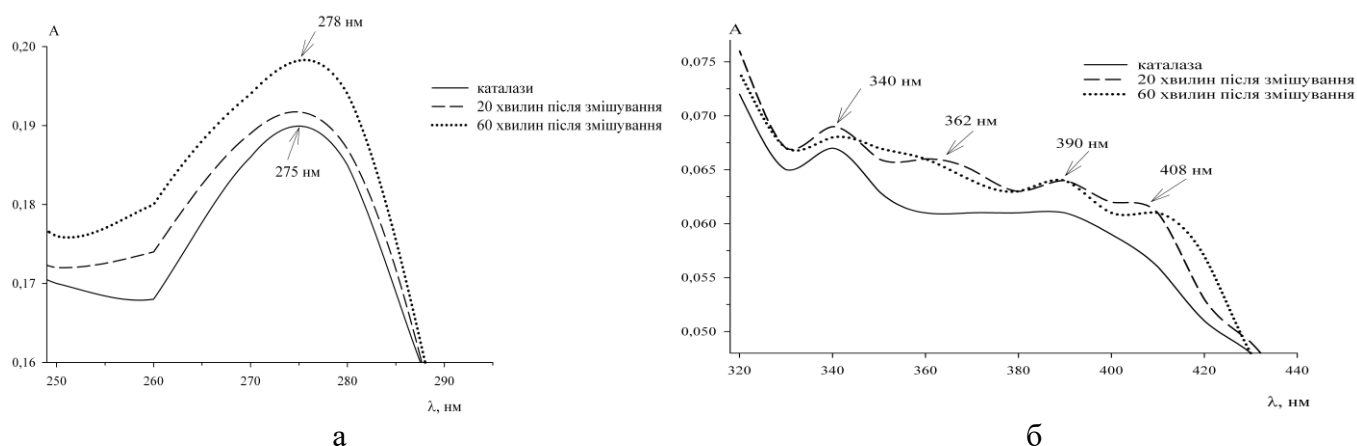


Рис. 5 Електронний спектр поглинання каталази та суміші каталази і Re_{AcAd}

Зміни, які спостерігаються у цій області під дією різноманітних факторів, відповідають перебудові білкової глобули за участю ароматичних амінокислот (Bartoszczek M., 2006; Тарадина Г. В., 2011). Інтенсивність поглинання у цій області є мірою вмісту α -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 – Re_{AcAd} із більш впорядкованою конформацією. Тобто, приєднання Re_{AcAd} до His залишків не тільки не порушує впорядкованості білкової глобули, але сприяє її зміцненню, тобто впорядкованості. Така зміна конформації білкових глобул тетрамерної каталази призводить до підвищення її каталітичної активності.

Область поглинання каталази у регіоні 340 – 420 нм відповідає поглинанню гемінових груп, або залізо-порфіринових центрів, так звана смуга Core (*Soret band*), (рис. 5б). Приєднання Re_{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 Re_{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 π -кон'югації порфіринових кілець у активному центрі ферменту та про формування активного центру з більшою електронною густиною π -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, наприклад, тетракарбоксилати і трикарбоксилати диренію(III). 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.

Заключення. Обговорюються основні висновки і пропонуються механізми антиоксидантної активності кластерних сполук Ренію.

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- μ -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-тетрахлориди- μ -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 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 гемостазу 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. Корреляція показателів системи гемостазу з маркерами перекисного окислення ліпидів у вагітних з преєклампсией // 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., Третяк 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. 72-81. (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., Babiya 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 наночастинок, 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 г. 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, 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 : X 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. Дніпропетровськ, 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 технологии. 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. Дніпропетровськ, 2010. С. 236. *(Здобувачем проведено дослідження активності ферментів антиоксидантного захисту та вмісту ТБК-активних продуктів, здійснено аналіз отриманих результатів, підготовлено тези до друку).*

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. - Харківський національний університет імені В. Н. Каразіна МОН України, Харків, 2019.

Дисертацію присвячено дослідженню впливу кластерних сполук Ренію(III) з органічними лігандами за різних форм введення щурам-пухлиноносіям на активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів за розвитку звичайної та резистентної до цисплатину карциноми Герена та їхню каталазну активність і взаємодію з нативною каталазою. Встановлено зменшення вмісту ТБК-активних продуктів в крові за введення сполук Ренію щурам-пухлиноносіям незалежно від способу та інтенсивності гальмування пухлини. Показано вплив органічних лігандів на активність ферментів антиоксидантного захисту. Наявність адамантильних, індольних і ферулатних лігандів сприяє збільшенню активності цих ферментів

порівняно з контролем на відміну від сполук з алкільними лігандами. Вперше показано різний процес функціонування ферментативної антиоксидантної системи захисту в крові шурів-пухлиноносіїв за розвитку різних штамів карциноми Герена. Визначено, що дикарбоксилатні кластерні сполуки ренію(III) *цис*-конфігурації з ізобутиратними і ацетіламіноадамантильними лігандами мають власну каталазну активність. Доведено, що досліджувані кластерні сполуки Ренію(III) взаємодіють з нативною каталазою, утворюючи комплекс білок-сполука Ренію, що призводить до формування неушкодженого та більш ефективного залізо-порфіринового активного центру ферменту і прискорення процесу розкладу гідроген пероксиду.

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

АННОТАЦІЯ

Шамелашвили К. Л. Регуляция оксидативного стресса крови крыс-опухоленосителей при введении противоопухолевой системы Рений-Платина – Квалификационная научная работа на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.04 – биохимия - Харьковский национальный университет имени В. Н. Каразина, МОН Украины, Харьков, 2019.

Диссертация посвящена исследованию влияния соединений Рения(III) с органическими лигандами при различных формах введения на активность ферментов антиоксидантной защиты эритроцитов, а именно супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы, при развитии обычной и резистентной к цисплатину карцином Герена; их каталазной активности и взаимодействию с нативной каталазой. Установлено уменьшение содержания ТБК-активных продуктов в крови при введении кластерных соединений рения(III) крысам-опухоленосителям независимо от способа введения и интенсивности торможения опухоли. Показано влияние органических лигандов в структуре кластерных соединений рения(III) на активность ферментов антиоксидантной защиты. Наличие адамантильных, индольных и ферулатных лигандов способствует увеличению активности этих ферментов по сравнению с контролем в отличие от влияния соединений с алкільными лигандами. Впервые исследовано функционирование ферментативной антиоксидантної системи захисту в еритроцитах крыс-опухоленосителей при развитии обычной и устойчивой к цисплатину карциномы Герена. Для обычной карциномы характерно подавление активности эритроцитарной каталазы, а для резистентной, наоборот, активация по сравнению с группой опухоленосителей и даже с контрольной группой крыс. В эритроцитах опухоленосителей с устойчивой к цисплатину опухолью уровень активности супероксиддисмутазы и каталазы превышал таковой у опухоленосителей с обычной карциномой в 3-5 раз, что вносит определенный вклад в понимание биохимических особенностей феномена устойчивости к цитостатикам. Также, показан разный ответ ферментативной системы эритроцитов на введение цитостатиков. Так, при введении соединений рения с ферулатными лигандами в эритроцитах крыс с устойчивой к цисплатину опухолью обнаружена высокая активность глутатионпероксидазы, что по нашему мнению требует дополнительных исследований влияния этого

соединения на систему глутатионовой защиты эритроцита. Впервые была исследована каталазная активность кластерных соединений Рения(III) *in vitro*. Установлено, что дикарбоксилатные кластерные соединения Рения(III) *цис*-конфигурации с изобутиратными и ацетиламиноадамантильными лигандами имеют собственную каталазную активность, которая достигает 40% по сравнению с активностью нативной каталазы. Зависимость между скоростью реакции разложения гидроген пероксида соединениями Рения и концентрацией субстрата не является прямопропорциональной, что свидетельствует о сложном механизме реакции. Доказано, что исследуемые кластерные соединения Рения(III) взаимодействуют с нативной каталазой, образуя комплекс белок-соединение Рения с гистидиновыми остатками белка, что приводит к формированию неповрежденного и более эффективного железо-порфиринового активного центра фермента и ускорению процесса разложения гидроген пероксида. Область поглощения ароматических аминокислот комплекса каталаза - соединения Рения имеет большую интенсивность и небольшой сдвиг в длинноволновую область спектра по сравнению с нативной каталазой, что может быть объяснено образованием более упорядоченной конформации белковой глобулы при присоединении соединений Рения. Присоединение соединений Рения к каталазе приводило также к повышению интенсивности поглощения в области полосы Core, что свидетельствует об увеличении π -конюгации порфириновых колец гемма и может сделать определенный вклад в реакционную способность новообразованного комплекса. Полученные данные подчеркивают важность дальнейших исследований каталазной активности кластерных соединений Рения(III) и являются важным шагом в создании новых биомиметиков с антиоксидантной активностью на основе соединений Рения с четвертичной связью.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, оксидативный стресс, кластерные соединения Рения, карцинома Герена, каталаза, супероксиддисмутаза, цисплатин.

SUMMARY

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

Dissertation for Candidate's of Biological Sciences degree by speciality: 03.00.04 – biochemistry. - 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 Guerin carcinoma; their catalase activity and interaction with native catalase. The decreasing quantity of TBA-active products in blood under introduction of the rhenium compounds to tumor-bearing rats was established independently from the method of introduction or from intensity of the tumor-breaking. Influence of the organic ligand structure in the introduced rhenium compound on activity of antioxidant enzymes was shown. Existence of adamantyl, indolyl and ferulyl ligands

in the structure of the rhenium compounds led to increasing of activity of this enzymes in comparison to control. First the different process of function of the antioxidant enzymes of blood of tumor-bearing rats during development of the ordinary and resistant to cisplatin Guerin carcinoma. It was shown that dicarboxylates dirhenium(III) compounds of cis-configuration have their own catalase activity. It was confirmed, that dirhenium(III) cluster compounds reacted with native catalase with formation of the complex protein – rhenium substance with not disturbed and more effective ferrum-porphirine active center of the enzyme and with following enhancing of the process of hydrogen peroxide decomposition.

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

Підписано до друку 30.07.19 р. Формат 60х90/16.
Ум. друк. арк. 0,9. Обл.-вид. арк. 0,9. Друк ризографія.
Тираж 100. Замовлення № 31

Надруковано ВТК «Друкар» ДЗ «ДМА МОЗ України»
м. Дніпро, пл. Соборна, 4