

УДК 577.151.62:616-006

АНТИОКСИДАНТНЫЕ СВОЙСТВА ГЛЮКОНАТА МАРГАНЦА КАК ВОЗМОЖНЫЙ МЕХАНИЗМ ЕГО ПРОТИВООПУХОЛЕВОГО ДЕЙСТВИЯ

Овсюк Д.Н., Уразаева С.И., Чумак В.А., Князева О.А.

ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет,
Уфа, e-mail: rectorat@bashgmu.ru

Марганец является жизненно важным микроэлементом, так называемым биометаллом, который может изменять степень окисления с Mn^{+2} на Mn^{+3} , выступать кофактором антиоксидантных ферментов, способен катализировать работу пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы и аргиназы. В крови марганец транспортируется в виде свободных ионов или в комплексе с -глобулином и активно захватывается в печени, также возможна транспортировка с трансферрином в другие органы и ткани. Проникновение ионов марганца в гепатоциты осуществляется различными белками-транспортёрами: транспортёр DMT-1, транспортёры цинка (ZIP8, ZIP14), дикарбоксилатный транспортёр, трансферриновые рецепторы (TfR); а также через кальциевые каналы. Ионы марганца могут оказывать цитотоксическое, генотоксическое действие. Получены данные о стимулирующем действии глюконата $Mn(II)$ на показатели гуморального и клеточного звеньев иммунной системы белых мышей. Результаты экспериментального исследования на иммунодефицитных мышцах свидетельствуют о подавлении глюконатом марганца процессов перекисного окисления липидов и стимулирующем действии на глутатионпероксидазу – ключевой антиоксидантный фермент, что может явиться пусковым механизмом торможения процесса опухолевого роста клеток.

Ключевые слова: мыши, иммунодефицит, глюконат марганца, перекисное окисление липидов, антиоксидантные ферменты, противоопухолевое действие.

MANGANESE GLUCONATE ANTIOXIDANT PROPERTIES AS SUPPOSITIOUS MECHANIZM OF ANTITUMOR ACTIVITY

Ovsyuk D.N., Urazaeva S.I., Chumak V.A., Knyazeva O.A.

Bashkir state medical university, Ufa, e-mail: rectorat@bashgmu.ru

Manganese is a vital microelement and so-called biometal, which can change the degree of oxidation from Mn^{+2} to Mn^{+3} , acts as a cofactor of antioxidant enzymes, it can catalyze the work of pyruvate carboxylase, phosphoenolpyruvate carboxylase and arginase. In the blood, manganese is transported as free ions or in combination with -globulin and is actively captured in the liver, transport with transferrin to other organs and tissues is also possible. Penetration of manganese ions into hepatocytes is carried out by various transport proteins: DMT-1 transporter, zinc transporters (ZIP8, ZIP14), dicarboxylate transporter, transferrin receptors (TfR); as well as through calcium channels. Manganese ions can have a cytotoxic, genotoxic effect. Data on the stimulating effect of $Mn(II)$ gluconate on the indices of the humoral and cellular links of the immune system of white mice are obtained. The results of the experimental study on immunodeficient mice testify to the suppression of lipid peroxidation by gluconate of manganese and the stimulating effect on glutathione peroxidase, a key antioxidant enzyme, which may be a trigger mechanism for inhibition of tumor cell growth.

Keywords: mice, immunodeficiency, manganese gluconate, LP, antioxidant enzymes, antitumor activity.

Актуальность

Марганец является важным микроэлементом, который может обладать как отрицательными (обладает свойствами цитотоксичности и генотоксичности), так и положительными эффектами. Из-за способности изменять степень окисления с Mn^{+2} на Mn^{+3} , марганец может выступать кофактором определенных антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы ($MnCOД$), пируваткарбоксилазы, различных трансфераз, гидролаз и киназ. Данные ферменты играют важную роль в метаболизме макронутриентов, а также в работе эндокринной, пищеварительной и репродуктивной систем организма [6]. Оксид и сульфат марганца – основные неорганические формы, при-

сутствующие в пище. Другие формы Mn , включающие карбонат, цитрат, глюконат, гидроксипролинат марганца, используются как биологически активные добавки. Химическая форма (Mn органический и неорганический), степень окисления (Mn^{+2} и Mn^{+3}) – факторы, влияющие на биодоступность марганца. Исследования на коровах установили, что биодоступность органического марганца выше неорганического (в сыворотке крови максимальная концентрация марганца, после приема органической формы была выше в 1,4 раза, чем после аналогичного приема неорганической соли марганца) [9]. При больших концентрациях в крови, марганец обладает токсическими свойствами: обнаруживается дисфункция митохондриального дыхания, генерация ак-

тивных форм кислорода (АФК), нарушения дофаминэргической, глутаматэргической и ГАМК-эргической систем организма. Получены данные о стимулирующем действии глюконата Mn(II) на показатели гуморального и клеточного звеньев иммунной системы белых мышей [2]. В то же время получены результаты на мышах, свидетельствующие об антиканцерогенном действии этого соединения [1].

Цель исследования: оценить процесс всасывания ионов марганца и влияния его соединения с глюконовой кислотой на про-антиоксидантную систему, как возможный механизм противоопухолевого действия.

Материалы и методы

Исследовательская работа проводилась на кафедре биологической химии БГМУ. Эксперимент проводился на 50-ти 2,5-месячных лабораторных мышах массой 25-30 г, которым однократно внутрибрюшинно вводился циклофосфан (50 мг/кг). Влияние синтезированного глюконата Mn (ИОХ УНЦ РАН) изучалось в сравнении с двумя группами: введение иммуностимулирующего препарата «Ликопид» (0,17 мг/кг) и глюконата Ca⁺² (50 мг/кг). Контролем, относительно которого оценивали результаты, служила группа иммунодефицитных мышей «без лечения», им вводилась дистиллированная вода. Эта группа сравнивалась с группой «контроль-интактные». Пероральное введение всех препаратов начиналось через 24 часа после инъекции циклофосфана и далее ежедневно в течение 14 дней. Глюконат марганца вводился в дозе 1/10 LD₅₀. На 15-е сутки животные умерщвлялись методом цервикальной дислокации, и в гомогенате печени определялась активность ключевых антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионпероксидазы (ГПО) и глутатионтрансферазы (ГТ). Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивалась по содержанию малонового диальдегида (МДА). Статистическая обработка результатов проводилась с применением программы «Microsoft Excel». Статистически значимыми принимали значения при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Всасывание марганца начинается в проксимальном отделе тонкой кишки, здесь он абсорбируется энтероцитами в форме Mn⁺³ путем связывания с белком трансферрином [8]. Всасывание марганца возможно только в ионной форме, различия в абсорб-

ционной способности глюконата и гидроксипролината марганца обусловлены разницей скорости высвобождения иона Mn⁺² из комплекса под действием ферментов желудочно-кишечного тракта [12]. Происходит эндоцитоз образовавшегося комплекса Mn⁺³-трансферрин, после чего трансферриновый рецептор (TfR) способствует образованию эндосомы и проникновению комплекса внутрь клетки. Внутри эндосомы Mn⁺³ под действием фермента ферроредуктазы переходит в Mn⁺². Ионы Mn⁺³ являются реакционноспособными, провоцируют образование АФК, вызывают оксидативный стресс, поэтому трехвалентный марганец практически не обнаруживается в цитоплазме клеток [11]. Транспортер бивалентных металлов-1 (DMT-1) является основным переносчиком марганца (80%), он входит в состав образовавшейся эндосомы и выводит ионы Mn⁺² в цитозоль [7]. В цитоплазме энтероцитов ионы марганца практически не используются, а их высокая концентрация вызывает экспрессию генов, кодирующих синтез экспортеров марганца: АТФазы-13A2, SLC30A10, ферропортина и секреторной Ca²⁺-АТФазы-1. В клетках двенадцатиперстной кишки наибольшую активность проявляет ферропортин. При высоких концентрациях марганца повышается активность АТФазы-13A2: улавливается избыток Mn⁺², который связывается в комплекс Mn⁺²-DMT-1 и выводится из клетки по типу экcitoза (защитный механизм) [7, 10, 13].

В крови марганец транспортируется в виде свободных ионов или в комплексе с β₁-глобулином и активно захватывается в печени, также возможна транспортировка с трансферрином в другие органы и ткани [5]. Проникновение ионов марганца в гепатоцит осуществляется различными белками-транспортерами: транспортер DMT-1, транспортеры цинка (ZIP8, ZIP14), дикарбоксилатный транспортер, трансферриновые рецепторы (TfR); а также через кальциевые каналы [4]. Марганец у человека входит в состав фермента митохондриальной СОД, необходимого для защиты митохондрии от действия супероксид аниона. Марганец способен катализировать работу ферментов пируваткарбоксилазы, фосфоенолпируваткарбоксикиназы и аргиназы [11]. Марганец обладает стимулирующим действием на синтез антител (IgG) [1].

При исследовании гомогената печени мышей в трех экспериментальных группах показано, что при иммунодефиците происходит резкое повышение ПОЛ – в 5,4 раза

и снижение активности антиоксидантных ферментов: СОД – в 5,3, каталазы – в 1,6, ГПО – в 11,2, ГТ – в 1,7 раз. После введения глюконата марганца эта картина улучшалась: происходило снижение уровня МДА в 1,5 раз и повышение ключевого антиоксидантного фермента ГПО – в 4,4 раза.

Заключение

Таким образом, марганец в зависимости от формы (органические комплексы, неорганические соли) и способа введения, может оказывать как положительное, так и цитотоксическое, генотоксическое действие. При повышении его концентрации в клетке происходит экспрессия генов, кодирующих синтез экспортеров марганца: АТФазы-13А2, SLC30А10, ферропортина и секреторной Са²⁺-АТФазы-1.

Результаты экспериментального исследования свидетельствуют о подавлении глюконатом марганца процессов перекисного окисления липидов и стимулирующем действии на глутатионпероксидазу – ключевой антиоксидантный фермент, что может явиться пусковым механизмом торможения процесса опухолевого роста клеток.

Список литературы

1. Князева О.А., Усачев С.А., Уразаева С.И. Роль соединений глюконовой кислоты с 3d-металлами в коррекции индуцированного иммунодефицита у мышей // Журнал научных статей Здоровье и образование в XXI веке. – 2016. – Т. 18, № 4. – с. 88-93.
2. Князева О.А., Конкина И.Г., Усачев С.А. К вопросу о биохимических механизмах противоопухолевого действия глюконатов 3d-металлов. В книге: Научные труды V Съезда физиологов СНГ, V Съезда биохимиков России, Конференции ADFLIM. 2016. С. 171
3. M. Baker, C. Simpson, L. Sheppard, B. Stover, L. Sheppard, H. Checkoway, B. Racette, N. Seixas, Blood Manganese as an Exposure Biomarker: State of the Evidence, J. Occup. Environ. Hyg. 11 (2014) 210-217.
4. P. Chen, S. Chakraborty, S. Mukhopadhyay, Manganese homeostasis in the nervous system, Journal of Neurochemistry, 134 (2015) 601-310.
5. C. Davis, L. Zech, J. Greger, Manganese metabolism in rats: an improved methodology for assessing gut endogenous losses. Proc Soc Exp Biol Med. 202 (1993) 103-8.
6. J. Freeland-Graves, T. Mousa, N. Sanjeevi, Nutritional Requirements for Manganese. In L. Cosat MA. Issues in Toxicology: Manganese in Health and Disease, Cambridge: The Royal Society of Chemistry, London. (2015) 34-75.
7. S. Gruenheid, F. Canonne-Hergaux, S. Gauthier, D. Hackam, S. Grinstein, P. Gros, The Iron Transport Protein NRAMP2 is an Integral Membrane Glycoprotein that Colocalizes with Transferrin in Recycling Endosomes, J. Exp. Med. 189 (1999) 831-41.
8. T. Gunter, K. Gunter, J. Malecki, R. Gelein, W. Valentine, M. Aschner, D. Yule, Manganese Transport via the Transferrin Mechanism, Neurotoxicol. 34 (2013) 118-140.
9. J. Hall, H. Winger, P. Hole, R. Samford, Investigation of the Bioavailability of Manganese from Organic vs. Inorganic Supplements, Proceed. Western Section Am. Soc. Anim. Sci. 58 (2007) 358-63.
10. D. Leyva, P. Chen, C. Zogzas, SLC30A10 is a cell surface-localized manganese efflux transporter, and parkinsonism-causing mutations block its intracellular trafficking and efflux activity, Neuroscience, 34 (2014) 14079-14095.
11. K. Tuschl, P. Mills, P. T. Clayton, Manganese and the brain, Int. Rev. Neurobiol., 110 (2013) 277-312.
12. E. Yenice, C. Mizrak, Effects of Organic and Inorganic Forms of Manganese, Zinc, Copper, and Chromium on Bioavailability of These Minerals and Calcium in Late-Phase Laying Hens, Biological trace element research, 167 (2015) 300-307.
13. Z. Yin, H. Jiang, E. Lee, M. Ni, K. Erikson, D. Milatovic, A. Bowman, M. Aschner, Ferroportin is a Manganese-Responsive Protein that Decreases Manganese Cytotoxicity and Accumulation, J. Neurochem. 112 (2010) 1190-8.