

УДК 615.277.3

## МЕХАНИЗМЫ АНТИКАНЦЕРОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ИОНОВ МЕДИ

**Сабирова Г.И., Закирова Э.Р., Князева О.А.**

*ФГБОУ ВО Башкирский государственный медицинский университет,  
Уфа, e-mail: sabivaguz@mail.ru*

Ионы меди необходимы для функционирования многих Cu-зависимых ферментов, составляющих антиоксидантную систему защиты организма. Полученные в работе результаты свидетельствуют о корригирующем действии глюконата меди (II) на продукцию цитокинов у мышей линии BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14. Снижение содержания провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6 свидетельствует о его противовоспалительных свойствах, а повышение уровня TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  – о противоопухолевом и иммуномодулирующем действии. Предполагаемый механизм действия глюконата меди (II) – индукция ядерного фактора каппа-B, которая регулируется с помощью цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$ . Дальнейшее углубленное исследование биохимических механизмов его действия может быть перспективным для использования в качестве антиканцерогенного препарата в противоопухолевой терапии.

**Ключевые слова:** глюконат меди (II), линейные мыши BALB/c, миелома Sp 2/0 Ag14, цитокины, антиканцерогенное действие.

## MECHANISMS OF ANTICARCINOGENIC ACTION OF COPPER IONS

**Sabirova G.I., Zakirova E.R., Knyazeva O.A.**

*Bashkir state medical university, Ufa, e-mail: sabivaguz@mail.ru*

The copper ions necessary for the functioning of many Cu-dependent enzymes that constitute the antioxidant protection system of the body. The obtained results indicate a corrective effect of the gluconate of copper (II) on cytokine production in mice of line BALB/c-grafted with myeloma Sp 2/0 Ag14. The decrease in the content of proinflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and IL-6 indicates its anti-inflammatory properties, and the increase in TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  on antitumor and immunomodulatory action. The presumed mechanism of action of the gluconate of copper (II) – induction of nuclear factor Kappa-B, which is regulated by cytokines IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ . Further in-depth study of biochemical mechanisms of its action may be promising for use as anticancer drug in anticancer therapy.

**Keywords:** copper gluconate (II), linear mice BALB/c, myeloma Sp 2/0 Ag14, cytokines, anti-carcinogenic action.

Медь (Cu) является одним из важнейших микроэлементов как для людей, так и для животных. В организме человека она существует в двух формах: Cu(I) и Cu(II). Ее способность легко захватывать и переносить электроны объясняет важность и необходимость в окислительных процессах и в удалении свободных радикалов из организма. Ионы меди необходимы для функционирования многих Cu-зависимых ферментов, таких как лизилоксидаза, цитохром C оксидаза, тирозиназа, дофаминовая  $\beta$ -гидроксилаза,  $\alpha$ -амидирующая монооксигеназа пептидилглицина, моноаминоксидаза, церулоплазмин, супероксиддисмутаза и других ферментов, представляющих антиоксидантную систему защиты организма.

В опытах *in vitro* было обнаружено, что добавление глюконата меди в питательные среды повышает содержание Cu<sup>2+</sup> в раковых клетках по сравнению с окружающей нормальной тканью [9]. Показано, что ионы меди в сочетании с дисульфирамом (ингибитором фермента ацетальдегиддегидрогеназы), действуют как ингибиторы протеасом [7], индуцируют окислитель-

ный стресс, уменьшают активность NF $\kappa$ B (Nuclear factor kappa Binding) и повышают чувствительность раковых клеток к химиотерапевтическим агентам [9]. Ядерный фактор каппа-B – это универсальный фактор транскрипции, контролирующей экспрессию генов апоптоза, иммунного ответа и клеточного цикла, состоит из 5 различных белков (NF-kB1 (p50), NF-kB2 (p52), RelA (p65), RelB и C-Rel) и активируется цитокинами: иммуностимулирующим интерлейкином-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и фактором некроза опухоли (TNF $\alpha$ ) – провоспалительным многофункциональным цитокином, стимулирующим продукцию ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона-гамма, активирующим лейкоциты, а также Т- и В-клеточными митогенами, двуцепочечной ДНК, ЛПС и др. Это ключевой регулятор для многочисленных генов, белков-мишеней адгезии и белков острой фазы, которые участвуют в процессах роста, апоптоза, воспалительного и иммунного ответа. При этом нарушение регуляции NF-kB способно вызвать воспаление, различные аутоиммунные заболевания, развитие вирусных инфекций, рака.

Показано, что ионы ряда металлов, из которых  $\text{Cu}^{2+}$  является наиболее активным, могут усиливать противоопухолевую активность дисульфирама [8,10,11,12,13,15].

Лабораторные исследования на животных доказали, что ионы меди обладают антиоксидантными свойствами [9] и могут иметь некоторые противоопухолевые эффекты [6], однако роль меди в канцерогенезе еще не ясна и требует новых исследований.

Цель исследования: оценить уровень цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$  в сыворотке крови мышей с привитой миеломой после двухнедельного перорального введения глюконата меди.

### Материалы и методы

Эксперимент проводили на 2,5-3-х месячных линейных мышах BALB/c (46 особей массой 22-25 г). За сутки до начала эксперимента животным внутривенно инъецировали суспензию клеток миеломы штамма Sp 2/0 Ag14 ( $0,5 \times 10^6$  кл/мышь). Затем мышам опытной группы ежедневно, в течение двух недель вводили перорально глюконат меди Cu(II) в дозе 1/10 LD<sub>50</sub> [2,3]. На 15-е сутки у животных забирали кровь из хвостовой вены и отделяли путем центрифугирования сыворотку, в которой методом иммуноферментного анализа (ИФА) с помощью тест-наборов (АО «ВЕКТОР-БЕСТ») определяли уровень цитокинов: IL-1 $\beta$ , IL-6, IFN- $\gamma$ ,  $\alpha$ -TNF. Результаты статистически обрабатывали с помощью программы STATISTICA 8.0. Для оценки различий между группами использовали непараметрический U-критерий Манна-Уитни, преимущество которого состоит в том, что он позволяет выявлять различия между малыми выборками. Метод определяет, достаточно ли мала зона перекрещивающихся значений между ранжированным рядом значений параметра в первой выборке и таким же во второй выборке. При этом, чем меньше значение критерия Манна-Уитни, тем больше вероятность, что различия между значениями параметра в выборках достоверны.

### Результаты и обсуждение

Нарушение баланса в системе цитокинов рассматривается как важный механизм развития многих патологических процессов. При злокачественном росте с цитокинами взаимодействуют две системы: «неоплазма-цитокины» и «иммунная система-цитокины» [1]. При этом опухолевые клетки могут продуцировать цитокины и экспрессировать соответствующие рецепторы. В опухоле-

вом процессе большую роль играют IL-1 $\beta$  и TNF $\alpha$ . Продуцировать TNF $\alpha$  способны многие опухолевые клетки. При росте опухоли уровень содержания TNF $\alpha$  в крови может повышаться как за счет его продукции опухолевыми клетками, так и в результате усиленного выделения макрофагами [5]. Известно, что провоспалительный цитокин IL-6 активно подавляет апоптоз опухолевых клеток и одновременно стимулирует процессы ангиогенеза; его увеличение в тканях опухоли и крови рассматривается как прогностически неблагоприятный признак [4]. Интерфероны (IFN- $\gamma$ ) представляют одну из самых быстро реагирующих систем иммунологической защиты, точный механизм их противоопухолевого действия не известен [14].

Результаты определения уровня цитокинов представлены в таблице (см. табл.).

Влияние глюконата меди на уровень цитокинов в сыворотке крови линейных мышей BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14

Цитокины	Мыши		
	1 группа	2 группа	3 группа
	«Контроль-интактные», пкг/мл	«Контроль-миелома», пкг/мл	«Миелома + CuGl», пкг/мл
IL-1 $\beta$	0,1 ± 0,02	0,9 ± 0,0*3	0,3 ± 0,02**
IL-6	0,4 ± 0,05	1,25 ± 0,15*	0,6 ± 0,05**
IFN- $\gamma$	5,0 ± 0,4	7,5 ± 0,6*	11,7 ± 1,2**
$\alpha$ -TNF	25 ± 2,3	17,9 ± 1,6*	36,5 ± 4,5**

Примечание: \* – отличия между группами 1 и 3 достоверны,  $p < 0,05$ ; \*\* – отличия между группами 2 и 3 достоверны,  $p < 0,05$ .

При сравнении полученных результатов выявлено, что у мышей с привитой миеломой уровень цитокинов в сыворотке крови значительно изменялся по сравнению с интактными животными: IL-1 $\beta$ , IL-6 и IFN- $\gamma$  повышался в 9,0, 3,1 и 1,5 раза соответственно, а уровень TNF- $\alpha$  снижался примерно в 1,4 раза. Двухнедельное пероральное введение глюконата меди оказывало существенное влияние на данные показатели. Так, по сравнению с группой «контроль-миелома», уровень IL-1 $\beta$  снижался в 3 раза, IL-6 – в 2,1 раз, а IFN- $\gamma$  и TNF- $\alpha$ , напротив, повышался в 1,6 и 2 раза соответственно.

Следует отметить, что содержание провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6, значительно снизившееся у мышей с привитой миеломой под влиянием терапии с использованием глюконата меди (II), может указывать на его противовоспалительное действие. В то же время повышение уровня TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  – на иммуномодулирующие и противоопухолевые свойства.

### Заключение и выводы

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о корригирующем действии глюконата меди (II) на продукцию цитокинов у мышей линии BALB/c с привитой миеломой Sp 2/0 Ag14. Снижение содержания провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$  и IL-6 указывает на его противовоспалительные свойства, а повышение уровня TNF- $\alpha$  и IFN- $\gamma$  – на противоопухолевое и иммуномодулирующее действие.

Предполагаемый механизм действия глюконата меди (II) – индукция ядерного фактора каппа-В, которая регулируется с помощью цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ .

Использование глюконата меди (II) может быть перспективным в противоопухолевой терапии.

### Список литературы

1. Антонеева И.И., Абакумова Т.В., Генинг Т.П. и др. Динамика изменений уровня цитокинов (TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-1 $\beta$ ) и их роль в развитии полиморфных локальных и дистантных эффектов при прогрессирующих формах рака яичника // Цитокины и воспаление. – 2013. – Т. 12. №4. – С.43-49.
2. 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.

3. 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.

4. Кузякина Л.В., Снарская Е.С., Дорофеев А.Е. и др. Особенности цитокинового спектра крови у больных с базалиомами кожи: патогенетические и клинические аспекты // Цитокины и воспаление. – 2006. – Т. 5. №3. – С.21-26.

5. Рыдловская А.В., Симбирцев А.С. Функциональный полиморфизм гена TNF $\alpha$  и патология // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4. №3. – С.4-10.

6. Araya M, Olivares M, Pizarro F, Míndez Ma, Gonzblez M, Uauy R(2005). Supplementing copper at the upper level of the adult dietary recommended intake induces detectable but transient changes in healthy adults. J Nutr. 135:2367-2371.

7. Chen D, Cui Q.C, Yang H, Dou Q.P(2006). Disulfiram, a clinically used anti-alcoholism drug and copper-binding agent, induces apoptotic cell death in breast cancer cultures and xenografts via inhibition of the proteasome activity. Cancer Res 66: 10425-33.

8. Diez M, Arroyo M, Cerdan FJ.(1989). Serum and tissue trace metal levels in lung cancer. Oncology. 46:230–234. [PubMed]

9. Georgewill Udeme Owunari, Siminialayi Iyeou Minakiri. (2014). Disulfiram and Copper Gluconate in Cancer Chemotherapy; a Review of the Literature. Cancer Research Journal. Vol. 2, No. 5, 2014, pp. 88-92. doi: 10.11648/j.crj.20140205.12

10. Habib FK, Dembinski TC, Stich SR.(1980). The zinc and copper content of blood leucocytes and plasma from patients with benign and malignant prostates. Clin Chim Acta.104:329–335. [PubMed]

11. Huang YL, Sheu JY, Lin TH (1999). Association between oxidative stress and changes of trace elements in patients with breast cancer. Clin Biochem. 32:131–136. [PubMed]

12. Nayak SB, Bhat VR, Upadhyay D,(2003). Copper and ceruloplasmin status in serum of prostate and colon cancer patients. Indian J Physiol Pharmacol. 47:108–110. [PubMed]

13. Rizk SL, Sky-Peck HH (1984). Comparison between concentrations of trace elements in normal and neoplastic human breast tissue. Cancer Res. 44:5390–5394. [PubMed]

14. Trinchieri G. Function and clinical use of interleukin-12 // Curr. Opin. Hematol. – 1997. – Vol. 4. №1. – P.59-66.

15. Turecky L, Kalina P, Uhlikova E.(1984). Serum ceruloplasmin and copper levels in patients with primary brain tumors. Klin Wochenschr. 62:187–189. [PubMed].