

¹Тамашевский А.В., ²Слобожанина Е.И.
**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ КОНЦЕНТРАЦИИ ИОНОВ МЕДИ
В ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ МОНОНУКЛЕАРНЫХ КЛЕТКАХ
ПАЦИЕНТОВ С ОПУХОЛЕВЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КРОВИ**

¹ГУ "Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и
медицинских биотехнологий", Министерства здравоохранения РБ,
г. Минск, Беларусь

²ГНУ "Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси",
г. Минск, Республика Беларусь

¹Tamashevski A.V., ²Slobozhanina E.I.
**A COMPARATIVE ANALYSIS OF COPPER IONS
CONCENTRATION IN PERIPHERAL MONONUCLEAR CELLS OF
PATIENTS WITH MALIGNANT BLOOD DISORDERS**

¹Republican Scientific and Practical Center for Transfusiology and Medical
Biotechnology, Ministry of Health of the Republic of Belarus, Minsk, Belarus

²Institute of Biophysics and Cell Engineering of National Academy of
Sciences, Minsk, Republic of Belarus

e-mail: tayzoe@mail.ru

Аннотация. В результате проведенного микроэлементного анализа периферических мононуклеарных клеток крови пациентов с хроническим лимфоцитарным лейкозом и острым лимфобластным лейкозом обнаружено достоверное увеличение содержания меди по сравнению с условно здоровыми донорами. Эти ионы могут являться потенциальными окислителями, запускающими процесс генерации АФК в данных типах клеток. При этом, выявленная ранее сниженная функция цистеин-содержащих белков металлотioneинов в лимфоцитах пациентов с опухолевыми заболеваниями крови может являться причиной нарушения гомеостаза меди в данных клетках.

Annotation. Microelement analysis of peripheral mononuclear blood cells of patients with chronic lymphocytic leukemia and acute lymphoblastic leukemia have been found a significant increase in the copper content. These ions can be potential oxidants that trigger the process of ROS generation in these types of cell. At the same time, previously was revealed a reduced function of cysteine-containing proteins – metallothioneins, in lymphocytes of patients with malignant blood disorders which may be the cause of a alteration of copper homeostasis in these cells.

Ключевые слова: периферические мононуклеарные клетки крови, хронический лимфоцитарный лейкоз, острый лимфобластный лейкоз, ионы меди, металлотioneины

Key words: peripheral mononuclear blood cells, chronic lymphocytic leukemia, acute lymphoblastic leukemia, copper ions, metallothioneins

Введение

Прогнозирование ответа пациентов с опухолевыми заболеваниями кроветворной ткани на терапию с целью ее последующей персонализации возможно на основе оценки ответа лейкозных клеток, составляющих морфологический субстрат заболевания, на лекарственные средства *ex vivo*. Лабораторный компонент персонализации терапии предполагает использование не только исходных структурных особенностей клеток (в частности мутаций) или выживаемости клеток после контакта с противоопухолевыми препаратами *in vitro*. Очевидно, что расширение спектра предсказательных диагностических технологий может способствовать прогнозированию ответа на терапию в организме с целью выбора адекватной стратегии лечения и ее дальнейшего мониторинга. В последнее время в литературе активно обсуждается роль дисбаланса ионов эссенциальных микроэлементов (например, цинка и меди) в развитии онкологических заболеваний [1], а также возможности прогноза эффективности химиотерапии при опухолевых заболеваниях крови, основанных на определении концентрации эссенциальных микроэлементов (Zn^{2+} и Cu^{+}) и содержания металлотиионеинов, как структур, депонирующих эти ионы, и тесно связанных с внутриклеточными процессами, контролирующими апоптоз при лейкозах.

Цель исследования – оценить концентрацию ионов меди в периферических мононуклеарных клетках крови пациентов с острым лимфобластным и хроническим лимфоцитарным лейкозами.

Материалы и методы исследования

В работе использована периферическая кровь практически здоровых доноров (n=8), полученная из ГУ "Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий" МЗ РБ. Периферическая кровь пациентов с диагнозом хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ, n=9) и острый лимфобластный лейкоз (ОЛЛ, n=6) была предоставлена УЗ «Минская областная клиническая больница» и ГУ «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии». Все образцы крови были в консерванте «гепарин».

Периферические мононуклеарные клетки (ПМНК) крови выделяли в градиенте плотности гистопак-1077 путем центрифугирования 300g в течение 30 мин.

Анализ содержания ионов меди в лимфоцитах доноров и пациентов с ХЛЛ и ОЛЛ выполнен методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой на приборе ICPE-9000 (Shimadzu, Япония) на базе лаборатории медицинской биофизики ГНУ «Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси». Для подготовки проб к измерению проводилась минерализация образцов с использованием системы микроволновой

пробоподготовки Milestone Ethos E (Италия). Условия минерализации (температура, давление, время и др.) устанавливали согласно стандартным протоколам фирмы-производителя. Калибровочные графики построены с использованием растворов государственных стандартных образцов (ГСО). Построение калибровочных графиков, расчет концентрации меди в анализируемых образцах, оценка статистических параметров измерения производилась автоматически программным обеспечением “ICPE Solution”.

Результаты исследования и их обсуждение

Одним из самых информативных методов для многоэлементного анализа в биологических средах является атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой. Этот метод характеризуется низким порогом определения элементов, отсутствием матричных эффектов и малыми объемами растворов, необходимых для анализа. С помощью данного метода было измерено содержание ионов меди в ПМНК пациентов с ХЛЛ и ОЛЛ, а также в аналогичных клетках условно здоровых доноров. Было обнаружено 2–3-кратное увеличение содержания меди в патологических клетках по сравнению с донорскими. Если значение уровня ионов меди в лимфоцитах условно здоровых доноров составляло в среднем $1,77 \pm 0,24$ мг/л, то для лимфоцитов, выделенных из периферической крови пациентов с ХЛЛ, данный показатель возрастал в среднем до $4,25 \pm 2,01$ мг/л, а с ОЛЛ – до $6,39 \pm 1,91$ мг/л.

Как известно, медь – это эссенциальный микроэлемент, который принимает участие в метаболических процессах, включающих клеточное дыхание, биосинтез белков и антиоксидантную защиту. Этот микроэлемент является участником острой фазы воспаления и его увеличение может происходить на фоне инфекции, травмы и хронических воспалительных состояний. Медь служит кофактором ферментов в окислительно-восстановительных реакциях, таких как цитохром оксидаза с (вовлечен в митохондриальную электрон-транспортную цепь) и супероксиддисмутазы (участвует в процессах детоксикации активных форм кислорода) [4]. Но избыток меди, как считается, может приводить к сдвигу окислительно-восстановительного баланса в организме и, таким образом, играть важную роль в развитии канцерогенеза. Так, в работе [6] было выявлено значительное повышение уровня меди и активация функции церулоплазмينا (медной оксидазы) на фоне снижения общей антиоксидантной активности в сыворотке крови пациентов с ОЛЛ. Также повышенное содержание меди было обнаружено и в сыворотке крови пациентов с ХЛЛ [3, 5]. Авторы данных работ заключили, что такое увеличение связано с гематологическим злокачественным новообразованием либо при рецидиве, либо при прогрессировании заболевания, тогда как при ремиссии или стабильном течении заболевания выявлен нормальный уровень меди. Кроме того, в указанных работах установлена связь между высоким содержанием меди в сыворотке и несколькими неблагоприятными прогностическими маркерами при ХЛЛ, такими как повышенная экспрессия ZAP70 и CD38.

Более того, как известно, *in vivo* металлотioneины связывают только цинк и медь, и таким образом участвуют в поддержании внутриклеточного гомеостаза именно этих эссенциальных микроэлементов [1]. Таким образом, можно предположить, что увеличение содержания меди в лимфоцитах пациентов с опухолевыми заболеваниями крови имеет прямую взаимосвязь с обнаруженной нами ранее сниженной функцией цистеин-содержащих белков металлотioneинов в данных клетках [2].

Выводы

Можно заключить, что анализ элементного состава, в частности эссенциальных микроэлементов, участвующих в метаболических процессах (в нашем случае, ионов меди), представляет определенную ценность для пациентов с гематологическими злокачественными новообразованиями в силу возможной тесной взаимосвязи с некоторыми важными неблагоприятными прогностическими маркерами при данных патологиях.

Список литературы:

1. Гармаза, Ю.М. Металлотioneины млекопитающих: структура и биологическая роль / Ю.М. Гармаза, А.В. Тамашевский, Е.И. Слобожанина // Известия НАН Беларуси. Сер. биол. наук. – 2016, № 1. – С. 107-116.
2. Участие металлотioneинов в поддержании жизнеспособности лейкозных лимфоцитов при модификации окислительно-восстановительного баланса / А.В. Тамашевский [и др.] // Актуальные вопросы биологической физики и химии – 2019. – Т.4, №4. – С. 558-563.
3. Copper levels in patients with hematological malignancies / G.D. Kaiafa [et al.] // Eur. J. Intern. Med. – 2012. – Vol. 23, N 8. – P. 738-741.
4. Kim B.E. Mechanisms for copper acquisition, distribution and regulation / B.E. Kim, T. Nevitt, D.J. Thiele // Nat. Chem. Biol. – 2008. – Vol. 4. – P. 176-185.
5. Labib H.A. Serum copper is a simple but valuable prognostic marker in B-cell chronic lymphocytic leukemia / H.A. Labib, M. Hassanein, R.L. Eteawa // Int. J. Hematol. – 2014. – Vol. 100, N 6. – P. 575-581.
6. Effects of Acute Lymphoblastic Leukemia on Ceruloplasmin Oxidase, Copper and Several Markers of Oxidative Damage, in Children / W.A. Mehdi [et al.] // Asian Pac. J. Cancer Prev. – 2015. – Vol. 16, N 13. – P. 5205-5210.

УДК 616-007 : 616.12

Тарасова Е. М., Быданцев М.А., Свалов А.И. Гагарина Е.М.
ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ИСКУССТВЕННОГО
КРОВООБРАЩЕНИЯ ПРИ ОПЕРАЦИЯХ НА СЕРДЦЕ У
НОВОРЖДЕННЫХ ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ СЕРДЦА
НА НЕБЛАГОПРИЯТНЫЕ ИСХОДЫ

Кафедра нормальной физиологии
Уральский государственный медицинский университет