

УДК 616-006.81.001.6: 546.56.002.234

## ПАТОГЕННА РОЛЬ ЗАЛЕЖНОСТІ РОСТУ МЕЛАНОМИ ВІД ПОРУШЕННЯ ГОМЕОСТАЗУ БІОЕЛЕМЕНТА МІДІ В ОРГАНІЗМІ

**А. О. Клименко, О. А. Струк, Ю. А. Клименко**

*Івано-Франківський національний медичний університет;  
м. Івано-Франківськ, вул. Галицька, 2*

*Виявлення суті злоякісного росту, розуміння метаболічної різниці між нормальними і пухлинними клітинами є важливою основою для пізнання механізмів та розробки нових ефективних методів терапії злоякісних новоутворень.*

*Загально прийнято, що виникнення злоякісного росту супроводжується не тільки локальними патологічними змінами, але й загальною реакцією організму на пухлину. Тому важливе значення у вивченні розвитку злоякісного росту являється дослідження факторів, які впливають на процес росту, розвитку і диференціювання клітинних елементів тканин [2, 3, 5, 6, 8, 10].*

*Особливий інтерес викликає вивчення обміну міді, оскільки цей біоелемент входить до складу металоензимів, має пряме відношення до процесів клітинного поділу, росту, розвитку тканин, впливає на енергетичний обмін клітин та імунологічні реакції організму.*

*Ріст пухлини викликає складні метаболічні зміни не тільки в ракових клітинах, а й у віддалених від неоплазми органах і тканинах організму [4, 9, 11, 13, 14].*

*Враховуючи особливості важкості діагностики, високу опірність цих пігментних пухлин до існуючих методів лікування і значної потенції до метастазування, проблема діагностики і лікування меланобластом викликає значний практичний інтерес.*

*У зв'язку з цим особливого значення набуває вивчення патогенетичних механізмів, розуміння яких дозволить розробити методи корекції порушеного гомеостазу, що в комплексі з основними способами лікування пігментних пухлин значно підвищить їх ефективність.*

**Ключові слова:** меланома, амінокислоти тирозин, фенілаланін, мідьдефіцитна дієта, біометали мідь і цинк.

### **Вступ**

Особливістю патохімічного розвитку меланом від інших видів бластом є їх безпосередня залежність від утилізації амінокислот тирозину і фенілаланіну з утворенням пігменту меланіну під впливом специфічного ферменту тирозінази, обов'язковою складовою частиною якої є біоелемент мідь [3].

Амінокислоти фенілаланін і тирозин є субстратами, які під впливом мідьвмісного ферменту тирозинази синтезуються у меланін, а мідь, як незамінимий структурний металокомпонент ферменту, є його специфічним активатором.

Досліджено, що між джерелом синтезу пігменту меланіну, вмістом біоеlementу міді в тканині пухлини, активністю ферменту тирозинази та інтенсивністю росту меланобластоми існує тісний корелятивний взаємозв'язок [2, 7, 8, 10, 12, 13].

Мета дослідження – виявити взаємозв'язок між розвитком дефіциту міді в організмі, обумовленого споживанням харчового раціону, з селективним виключенням міді на ріст експериментальної меланоми Гардінга-Пассі.

**Об'єкт і методи дослідження.** Дослідження виконано на 260 білих мишах масою 20-22 г. Як модель експериментальної пухлини використовували меланому Гардінга-Пассі. Пігментну пухлину перевивали шляхом підшкірного введення 0,2мл 30-процентної суспензії на фізіологічному розчині в ділянку спини. Продовження життя тварин спостерігалась протягом 50-65 днів.

Усі тварини були розподілені на групи, які отримали повноцінний харчовий раціон, а інші такий раціон тільки з селективним виключенням міді, виготовлений за методом Бабенка Г.О. [1].

Приготовлена з нативних продуктів дієта піддавалася аналізу на вміст біоеlementів-металів. Після обробки методом високовольтного електродіалізу, що обумовлювало втрату всіх мінеральних компонентів, але зберігало свої харчові цінності, повертали макро- і мікроелементи до відповідного нормального рівня, але з селективним виключенням біоеlementу міді.

Утримання тварин на звичайному раціоні віварію і тварин на дієті із продуктів, підданих електродіалізу з поверненням всіх мінеральних компонентів, зберігали нормальні ідентичні показники гомеостазу. Дієта з селективним виключенням міді містила набір усіх незамінних макро- і мікроелементів у концентраціях подібних у харчовому раціоні з нативних харчових продуктів і була адекватна за калорійністю, вмісту вітамінів і амінокислот [1].

Солева суміш елементів складалася з особливо чистих солей (ОСЧ).

В експерименті на мишах досліджували динаміку показників міді й цинку в тушках мишей без кишечника, активність ферментів церулоплазміна, каталази, насиченості залізом трансферину в процесі пухлинного росту при споживанні повноцінного харчового раціону та аналогічні показники у групі тварин на дієті без наявності біоеlementу міді.

На окремій групі тварин досліджували показники зміни маси пухлини та продовження життя у мишей з імплантованою меланою Гар-

дінга-Пассі, що утримувались на повноцінній дієті та дієті з відсутністю міді.

Таблиця 1. Вміст макро- і мікроелементів у досліджуваних дієтах (на сиру речовину)

	Біоелементи в нативній дієті	Демінералізована дієта	Різниця
В мг %			
Натрій	46,2	24,2	22,0
Калій	274,9	123,5	151,4
Кальцій	179,8	118,3	61,5
Магній	28,5	18,2	10,3
Фосфор	93,2	74,5	18,7
Залізо	1,48	0,014	1,446
В мкг %			
Мідь	239,5	0	239,5
Цинк	619,7	0	619,7
Кобальт	4,8	0	4,8
Марганець	702,1	0	702,1
Молибден	18,9	0	18,9
Кремній	287,5	14,2	273,3
Хром	22,4	0	22,4
Ванадій	3,0	0	3,0
Титан	18,4	0	18,4
Алюміній	212,0	0	212,0

Визначення вмісту міді проводили спектрофотометричним методом, рівень цинку полярографічним, активність церулоплазміну та насиченість залізом трансферину визначали за методом Бабенка Г.О. Активність каталази – за Бахом і Зубковою.

Усі аналізи проведені на базі акредитованої «Біохімічної лабораторії» кафедри біохімії (Атестат акредитації № 002167).

Отримані результати досліджень опрацьовані методами варіаційної статистики з використанням програми математичного комплексу. Для перевірки гіпотези про рівність середніх величин використовували критерій Ст'юдента-Фішера.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Встановлено, що найбільш інтенсивний ріст пухлини спостерігається до кінця місяця після імплантації меланому Гардінга-Пассі. Отже, визначення маси пухлини проводили на 25-й та 30-й дні експерименту. Маса меланому у групі тварин, що утримувались на повноцінному раціоні, на 25-й та 30-й дні складала  $2,42 \pm 0,03$  г і  $2,52 \pm 0,02$  г на сиру речовину. Продовження життя тварин після імплантації тривало в межах 50-65 днів. Вміст біоелементів міді й цинку в тканині пухлини відповідно на 25-й та 30-й дні становив

ли – для міді –  $6,18 \pm 0,19$  і  $6,22 \pm 0,10$  мг/кг та цинку  $31,71 \pm 1,29$  і  $33 \pm 1,03$  мг/кг.

Рівень еритроцитів і гемоглобіну крові протягом усього експерименту поступово знижувався і на 60-й день становив відповідно 53 і 81 процентів від норми, яка дорівнювала  $9,80 \pm 0,08$  Т/л і  $114,0 \pm 1,30$  г/л. Вміст лейкоцитів змінювався навпаки і, починаючи, з перших днів, прогресивно наростає і на кінець досліджу майже у 2 рази перевищував норму, яка становила  $7,85 \pm 0,12$  Г/л.

Розвиток меланоми в організмі мишей неоднозначно впливав на зміну активності досліджуваних металоферментів у організмі. Так, активність церулоплазміну поступово наростала і під кінець експерименту (на 60-й день) становила  $28,20 \pm 8,51$  при нормі  $16,45 \pm 0,98$  ум. од. Активність каталази та насиченість залізом трансферину достовірно знижувалась і дорівнювала відповідно на кінець досліджу  $2,90 \pm 0,08$  при нормі  $4,42 \pm 0,12$  мгН<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мл і  $0,13 \pm 0,04$  при нормі  $0,17 \pm 0,01$  ум. од.

Порівняння показників активності церулоплазміну і насиченості залізом трансферину сироватки крові свідчать, що активність цієї спряженої мідь-залізо-білкової системи, яка відіграє важливу роль у процесі кровотворення [12], при розвитку злоякісного росту порушено. Підвищення активності церулоплазміну є недостатнім для нормального насичення залізом трансферину, внаслідок чого постачання заліза до кісткового мозку ускладнена.

Прогресування злоякісного росту в організмі мишей, що утримувались на повноцінній дієті, сприяло (протягом всього експерименту) поступовому наростанню в тушках мишей концентрації як міді, так і цинку, яке на 60-й день досліджу відповідно становило для міді  $6,10 \pm 0,19$  мг/кг при нормі  $4,70 \pm 0,07$  мг/кг та цинку  $18,1 \pm 0,31$  мг/кг при нормі  $11,10 \pm 0,14$  мг/кг.

У другій групі тварин, які споживали харчовий раціон з селективним виключенням міді, розвиток дефіциту міді в організмі викликав (протягом всього експерименту) достовірне зниження вмісту еритроцитів і гемоглобіну ( $P < 0,001$ ). Одночасно спостерігалось достовірне зростання кількості лейкоцитів ( $p < 0,001$ ).

Наростання дефіциту міді в організмі обумовлювало на кінець досліджу достовірне падіння активності металоферментів церулоплазміну, каталази та насиченості залізом трансферину крові, що складало відповідно 30, 28 та 59 процентів від норми.

У той же час, утримування мишей з імплантованою меланою Гардінга-Пассі на безмідному раціоні сприяло прогресивному зменшенню кількості цього біоелемента в тушках мишей, яке на кінець дослідження майже в 2,5 рази було нижчим рівня, характерного здоровим тваринам. Рівень цинку в тушках мишей поступово наростає протягом всього експерименту ( $p < 0,001$ ).

Одночасно формування дефіциту міді в організмі піддослідних тварин зумовлювало угамуванню розвитку злоякісного росту, що підтверджувалося достовірним зменшенням маси меланоми, яке на 25-й та 30-й день становило  $0,067 \pm 0,02$  г і  $0,063 \pm 0,01$  г на сиру речовину.

Порівнюючи з масою пухлини, на цей період у тварин, що утримувались на звичайному повноцінному раціоні, процент гальмування росту пухлини становив 97 процентів, що супроводжувалось продовженням життя піддослідних тварин майже у два рази.

При цьому, у 20 процентів випадків спостерігалось повне припинення росту меланом.

### **Висновки**

1. На основі отриманих результатів, правомірно підвищену ретенцію міді в організмі тварин з імплантованою меланомаю Гардінга-Пассі розглядати як специфічний патогенетичний фактор для даного виду канцерогенезу, який сприяє пухлинному росту.

2. Використання дефіцитних на мідь харчових раціонів є перспективним напрямом у лікуванні пігментних пухлин.

**Перспективи подальших досліджень.** Враховуючи біологічну роль міді в патогенезі пігментних новоутворень, пошуки лігандів, які володіють властивостями специфічно зв'язувати мідь, є перспективним напрямом в пошуках нових шляхів зменшення росту пігментних пухлин.

### *Література*

1. Бабенко Г.А. О моделировании болезней, связанных с эндогенным и экзогенным дефицитом микроэлементов в организме / Г.А. Бабенко // Принципы экспериментального моделирования патологических процессов. – К., 1967. – С. 11-13.
2. Бабенко Г.А. Использование констелляционных показателей активности металлопротеидов, содержания меди и свободно-радикальных реакций сыворотки крови для диагностики и контроля за ходом лечения меланобластом / Г.А. Бабенко, А.А. Клименко, Ю.М. Матияш // Отчет о научно-исследовательской работе 1982, № гос.регистрации 0283 0016926.
3. Святухин И.В. Теоретические и экспериментальные основы терапии меланом / И.В. Святухин, В.Л. Ковалева, С. Киров. – М., 1976. – 81 с.
4. Стандарти діагностики і лікування онкологічних хворих // Онкологія. – 2008. – №10 (№1 додаток). – 80 с.
5. Демидов С.Л. Меланома шкіри: стадіювання, діагностика і лікування / С.Л. Демидов, Р.Ю. Харкевич // Російський онкологічний науковий центр ім. М. Блохіна РАМН. – 2015.
6. Коровін С.І. Хірургічне лікування хворих на первинно-локалізовану меланому шкіри / С.І. Коровін. – К., 2010.

7. Сергеев С.И. Содержания меди и активности церулоплазмينا в крови больных меланомой / С.И. Сергеев, М.К. Кочетова, О.А. Романова // Вопросы онкологии. – 1978. – Т.24. – №10. – С. 61-65.
8. Bajetta E. Chemiotherapy of metastaz melanoma / E. Bajjeta, Del Vecchiome [et al] / Semin in Oncology. – 2002. – Т.5. – С. 427-445.
9. Buzaid A.L. Biochemotherapy in the treatment of advanced melanoma; Clinical results and potential mechanisms of anto-cancer activity / A.L. Buzaid, Anderson, C.V. Ali Osman [et al.] // Prog. Anticancer Chemotherapy. – 1997. – С. 68-87.
10. Deanilowier-Volarchik E. Immunological determination of thyrosinase in sera of velanoma bearing hamstera / E. Deanilowier-Volarchik. – 1980. – V.27, 4. – P. 345-353.
11. Garbe C. Diagnosis end treatment of melanoma; European consensus-based interdis ciplinary guideline / C. Garbe, K. Peris [et al.] / Eur. J. Cancer. – 2010. – Т. 46. – P. 270-283.
12. Horcicko J. Clin. chim. Acta / J. Horcicko, M. Pantucek. – 1983. – V. 230. 3. – P. 279-282.
13. Harry B. Effects of low phenylalanint- terosint diets on 591 mouse melanomas / B. Harry, M.J. Demjopoulos of the national Cancer inst. – 1996. – V.36. 2. – P. 188-190.
14. Thomas J.V. Excision margins inhigh-risk melignant melanoma / J.V. Thomas, J.A. Ntwtton-Bishop, R. Hern [et al.] // N. Engl. J. Med. – 2004. – 350. – P. 757-766.

*Стаття надійшла до редакційної колегії 23.11.2017 р.  
Рекомендовано до друку д.м.н., професором Синоверською О.Б.,  
д.м.н., професором Прищуком Л.А. (м. Київ)*

## THE PATHOLOGIC DEPENDENCES OF MELANOMA GROWTH FROM COPPER HOMEOSTASIS

**A. O. Klymenko, O. A. Struk, Yu. A. Klymenko**

*Ivano-Frankivsk National Medical University;  
76018, Ivano-Frankivsk, Galytska Str., 2*

*The research of melanoma malignant growth nature, the perception of metabolic differences between normal and neoplastic cells are an important basis for appreciation of effective tumors treatment methods.*

*It's known, that malignant growth development is supported by not only local pathological alteration, but general reaction for tumor. That's why the important moment in malignant growth discovery is research of some factors influenced for growth, development and differentiation of tissue cells. In this case, copper metabolism is very interesting, because this element is a part of*

---

*many enzymes, has influence for cell' separation, growth, tissue development, energetic metabolism in cells and immune reaction in human body.*

*Due features and difficulties of diagnostics, high resistance of these pigment tumors for treatment, high potention to metastasis the problem of diagnostic and treatment of melanomas has big practical interest. Thus, the most important is study of pathogenesis mechanisms which can give us of possibility of modern treatment development and improve it efficacy.*

**Key words:** *melanoma, tyrosinase activity, phenylalanine, copper-deficiency diet, copper, zinc.*