

УДК 612/902. 622. 3147
©Коллектив авторов

РОЛЬ ЦЕРУЛОПЛАЗМИНА ПРИ РАЗВИТИИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ.

Т. П. Вавилова¹, Ю. Н. Гусарова¹, О. В. Королева², А. Е. Медведев^{1,3}

¹ Московский государственный медико-стоматологический университет, Москва, 103473, ул. Делегатская, д.20/1; тел. (095)3654597,

эл. почта: trvavilova@yandex.ru

² Институт биохимии им. А. Н. Баха РАН, Москва, 119071, Ленинский пр-кт д. 33, тел. (095)9528799

³ ГУ НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, Москва, Погодинская ул. 10

Церулоплазмин (ЦП) — медьсодержащая оксидаза фракции альфа-2-глобулинов плазмы крови человека. В обзоре рассмотрена биологическая роль ЦП в норме и при развитии неопластических процессов. При определенных условиях этот белок может участвовать как в противоопухолевой защите, так и в процессах метастазирования. ЦП уже используется в интенсивной терапии онкологических больных, однако механизмы его действия до конца не выяснены.

Ключевые слова: церулоплазмин, антитела к церулоплазмину, онкологические заболевания.

ВВЕДЕНИЕ. Церулоплазмин (ЦП) — медьсодержащая оксидаза (КФ.1.16.3.1), относящаяся к альфа-2-глобулиновой фракции плазмы крови человека, — впервые описан в 1944 г. и выделен в чистом виде в 1951 г. [1].

1. Структура, биосинтез и метаболизм ЦП в организме.

Церулоплазмин — это насчитывающий 1046 аминокислотных остатков высокомолекулярный белок с $M_r = 132$ кДа. Молекула ЦП содержит 6 доменов, образующих тригональную структуру, и 6 ионов меди. Согласно спектроскопическим и спектрофотометрическим данным, ионы меди, представленные в медьсодержащих оксидазах, классифицируются на три типа: ионы меди первого типа, второго типа и третьего типа, формирующие антиферромагнитную пару. Ион меди первого типа имеет пик оптического поглощения при 610 нм и определяет интенсивный голубой цвет ферментов данного класса. Окружение меди первого типа формируется консервативными лигандами: двумя азотами гистидина и SH-группой цистеина. На расстоянии 10 аминокислотных остатков от цистеина расположен остаток метионина, также принимающий участие в формировании координационной сферы иона меди первого типа. Такое расположение аминокислотных остатков наблюдается у ряда “голубых” оксидаз, включая ЦП, аскорбатоксидазу, растительную лакказу и лакказу *Aspergillus nidulans* [2-5].

Ион меди второго типа не вносит вклада в оптические спектры медьсодержащих оксидаз, но имеет типичный ЭПР-спектр двухвалентной меди, определяемый в супероксиддисмутазе, лакказе и ЦП [6].

Два иона меди третьего типа образуют биядерный медный комплекс,

ЦЕРУЛОПЛАЗМИН ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

который вносит вклад в оптический спектр ферментов, формируя пик поглощения при длине волны 330 нм, и не детектируется на ЭПР-спектрах, являясь строго антиферромагнитной парой. Ион меди второго типа и два иона меди третьего типа в медьсодержащих оксидазах образуют так называемый “трехъядерный кластер” - структурный фрагмент, содержащий три иона меди, а лигандами этого трехъядерного комплекса являются восемь гистидиновых остатков, расположенных в четырех консервативных аминокислотных последовательностях [2, 7 - 10].

В молекуле ЦП домены 2, 4 и 6 содержат по одному иону меди первого типа. За характерный “небесно-голубой” цвет белка ответственны ионы меди первого типа, локализованные в доменах 4 и 6 и связанные с остатками метионина. Следует отметить, что только в домене 2 метионин заменен остатком лейцина, связанным с ионом меди ван-дер-ваальсовыми силами.

Трехъядерный кластер в молекуле ЦП структурно расположен в двух доменах 1 и 6 [2]. Формирующие его ионы меди связаны с четырьмя остатками гистидина в первом домене и четырьмя — в шестом. Ион меди первого типа домена 6 и трехъядерный кластер формируют оксидазный центр ЦП. Данный центр по структуре идентичен центру аскорбатоксидазы — медьсодержащего белка растительного происхождения, который окисляет органический субстрат с сопутствующим восстанавливающим молекулы кислорода до двух молекул воды. Данное структурное сходство активных центров объясняет оксидазные свойства ЦП, обеспечивающие его ферроксидазную и антиоксидантную активности [2].

Биосинтез ЦП происходит в гепатоцитах [11]. Экспрессия гена ЦП обнаружена также в лимфоцитах [12], мононуклеарных клетках селезенки [13], ткани мозга [14], бронхов [15], матки [16].

Первичный продукт трансляции ЦП (80000 Да [17]) в гладком эндоплазматическом ретикулуме и аппарате Гольджи подвергается посттрансляционной модификации, включающей ограниченный протеолиз. При этом образуется предшественник ЦП (65000 Да), из которого в результате сшивки образуется молекула ЦП (130 кДа), поступающая в кровяное русло. Углеводный компонент составляет 7-8% массы молекулы ЦП и содержит глюкозамин (15,7-19,2%), маннозу (14,2%), галактозу (12,3%), фукозу (1,6%) и терминальные сиаловые кислоты (8,6%) [18]. Потеря хотя бы части остатков сиаловых кислот приводит к ускоренному удалению ЦП из кровяного русла и появлению его в паренхиматозных клетках печени [19, 20].

Принципиальное отличие гепатоцитов от других клеток организма, например, фибробластов, заключается в их способности избирательно связывать и поглощать молекулы ЦП, которые уже были экскретированы другими тканями организма [21]. ЦП после связывания со специфическим рецептором на поверхности клеток организма и передачи этим клеткам части ионов меди подвергается интернализации с помощью рецептор-опосредованного эндоцитоза [22]. При этом пептидная часть молекулы ЦП теряет остатки сиаловых кислот и освобождается в кровотоке [23]. Гепатоциты захватывают данную форму ЦП и выводят связанную с ним медь в желчь [24, 25].

Основное количество ЦП содержится в плазме крови. ЦП также присутствует в синовиальной жидкости [26] и в мышечных тканях [27]. Нормальные значения ЦП в сыворотке крови взрослых составляют 300-580 мг/л [28]. Рецепторы к ЦП обнаружены на купферовских клетках [29], фибробластах [30], астроцитах [31], эритроцитах [32], лейкоцитах [33], мембранах клеток аорты и кардиомиоцитов [34]. Такая распространенность рецепторов к этому белку указывает на его важную роль в организме.

2. Свойства церулоплазмينا.

Процессы, в которых участвует ЦП, имеют как ферментативную, так и неферментативную природу [35]. Среди физиологических функций ЦП необходимо отметить его участие в транспорте меди [36] и обмене железа [37]

(благодаря его ферроксидазной активности [38]), окисление биогенных аминов [39], а также антиоксидантная функция [40], обусловленная оксидазной активностью ЦП и связанная с регуляцией перекисного окисления липидов (рис. 1).

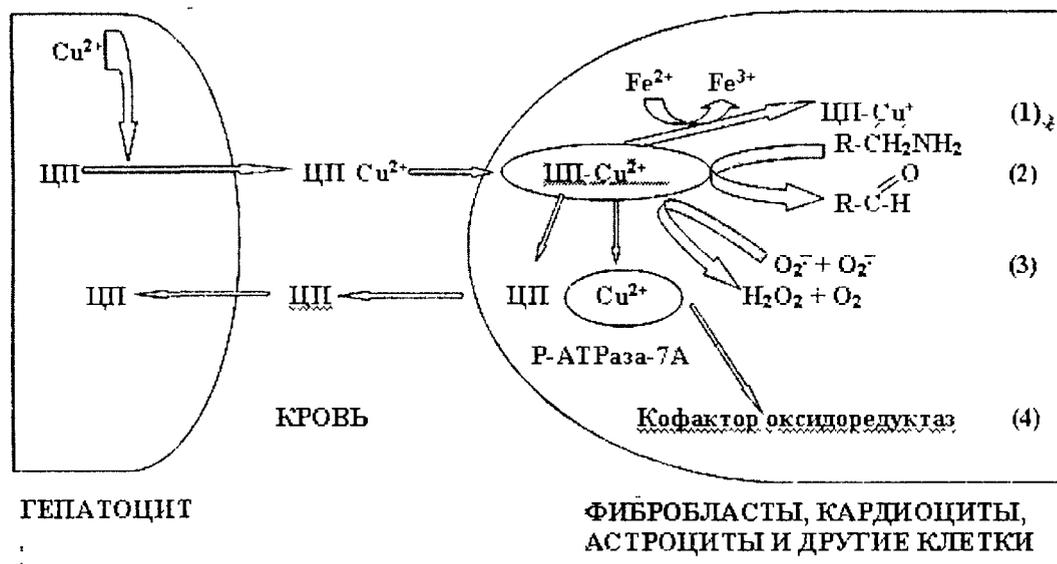


Рисунок 1.

Биологические эффекты церулоплазмينا (ЦП) в здоровой клетке. ЦП синтезируется в гепатоцитах и, связывая Cu^{2+} , переносит ее к другим клеткам. Поглощение ЦП- Cu^{2+} опосредуется рецепторами. ЦП- Cu^{2+} проявляет ферроксидазную активность (1), осуществляет окислительное дезаминирование биогенных аминов (2), обладает слабой супероксиддисмутазной активностью (3), выступает как источник внутриклеточной меди, которая переносится в клетки металлоторанспортером Р-АТРазой-7А для включения меди в активный центр оксидоредуктаз (4).

Основываясь на том, что в ЦП содержится до 95% всей меди плазмы крови [42] и лишь 5-10% циркулирует в кровяном русле в виде комплексов с альбумином и аминокислотами [43], Вготан в 1967 г. впервые постулировал медьтранспортную функцию ЦП [44]. Недостаток меди приводит к снижению активности медьзависимых металлоферментов: аминоксидаз, аскорбатоксидаз, супероксиддисмутаз, что обуславливает развитие многочисленных нейрохимических нарушений [45]. ЦП также необходим для выведения меди из тканей. Роль ЦП в метаболизме меди была выявлена при исследовании наследственного заболевания – гепато-лентикулярной дегенерации (Болезнь Вильсона-Коновалова). При этой патологии нарушен механизм экскреции ЦП из тканей [46]. Избыточное накопление ЦП и связанной с ним меди вызывает поражение органов, в которых он синтезируется.

В экспериментах на животных было показано, что даже при достаточном поступлении железа в организм, дефицит меди сопровождается анемией [47]. При введении ЦП таким животным быстрое увеличение содержания железа в крови наблюдалось уже через 5 минут [48]. Таким образом, роль ЦП в обмене железа связана с мобилизацией железа из железозапасающих органов, таких как печень и селезенка [49]. Ионы железа встраиваются в апоферритин в трехвалентном состоянии [50]. Этому процессу способствует ЦП, обладающий ферроксидазной активностью. Он окисляет ионы Fe^{2+} до Fe^{3+} [51, 52]. Ионы железа транспортируются ферритином в костный мозг и встраиваются в гем. Участие ЦП в обмене железа было подтверждено результатами изучения наследственного нарушения метаболизма железа, вызванного мутацией гена церулоплазмينا [37, 53]. Это заболевание, называемое ацерулоплазминемией, характеризуется полным

ЦЕРУЛОПЛАЗМИН ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

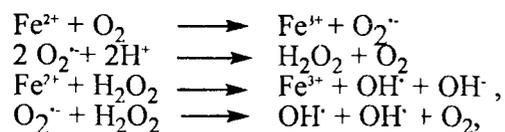
отсутствием ЦП в крови и сопровождается накоплением железа в тканях мозга и внутренних органов. Клинически это проявляется в дегенеративных изменениях сетчатки, неврологической и диабетической симптоматике.

ЦП участвует в метаболизме биогенных аминов, в частности, нейротоксина 6-гидроксидофамина. В присутствии кислорода последний подвергается окислению с образованием хинонов и активных форм кислорода. ЦП окисляет это вещество, предотвращая образование токсичных продуктов, повреждающих ткань мозга [38]. Астроциты, участвующие в синтезе медиатора нервной системы дофамина, также вырабатывают особую форму ЦП [54]. Это позволяет предположить, что ЦП влияет на распад адренергических медиаторов. Данное предположение согласуется с тем фактом, что при болезни Паркинсона, связанной с нарушением обмена нейромедиаторов (в первую очередь, дофамина), наблюдается низкий уровень ЦП в спинномозговой жидкости и сыворотке крови [55, 56].

Транспорт меди и обмен железа с участием ЦП, также как и окисление биогенных аминов, достаточно подробно изучены [35]. В настоящее время особый интерес представляют исследования антиоксидантного действия ЦП, что, очевидно, связано с использованием ЦП в терапии состояний, сопровождающихся повышенной генерацией свободных радикалов, в частности, при онкологических заболеваниях [57]. Было показано, что антиоксидантные свойства ЦП обусловлены его электрон-акценторными свойствами [58].

При генерировании супероксидных радикалов с использованием метода импульсного радиоллиза было показано, что ЦП не оказывает влияния на кинетику гибели супероксидных радикалов [59], однако он взаимодействует с их предшественниками — гидратированными электронами. Полученные данные были подтверждены и при химической генерации супероксидных радикалов (ксантип/ксантиноксидаза/тетразолий нитросиний): ЦП взаимодействует с восстановленной формой ксантиноксидазы, а не с супероксидными радикалами [60]. Таким образом, ЦП обладает слабой СОД-активностью и не является “ловушкой” супероксидрадикалов.

По мнению других авторов, антиоксидантные свойства ЦП обусловлены также его ферроксидазной активностью [61]. У пациентов с ацерулоплазминемией избыток ионов Fe^{2+} в тканях вовлекается в образование активных форм кислорода, которое происходит следующим образом:



По данным Miyajima и соавт. [62], увеличение концентрации железа сопровождается активацией перекисного окисления липидов в сыворотке крови, спинномозговой жидкости и в мембранах эритроцитов. В тканях мозга отмечается снижение метаболизма глюкозы и кислорода, а также увеличение уровня малонового диальдегида. При этом ферментативная активность дыхательной цепи митохондрий ткани базальных ганглиев снижается в комплексах I и IV на 45% и 42% соответственно. Таким образом, свободные радикалы, образованные при участии избыточных ионов железа, повреждают нервные клетки как за счет перекисного окисления липидов, так и нарушения функции митохондрий.

3. Изменение концентрации церулоплазмينا в сыворотке крови при патологических состояниях.

ЦП является белком “острой фазы” [63], его содержание в крови изменяется при различных неблагоприятных воздействиях на организм. В таблице 1 перечислены основные физиологические и патологические состояния, при которых описаны изменения концентрации ЦП.

Таблица. Физиологические и патологические состояния, сопровождающиеся изменением концентрации ЦП в сыворотке крови.

Название болезни или физиологического состояния	Ссылка
I. Патологические состояния с пониженным содержанием ЦП в сыворотке крови	
Болезнь Вильсона-Коновалова (вызывается аутосомно-рецессивной мутацией, проявляется как отравление медью)	Лекарь П. Г. и др., 1984 [64]; Musci G., 1999 [36]
Болезнь Менкеса (связана с пониженным содержанием меди в печени из-за плохой адсорбции из желудочно-кишечного тракта)	Wolf P. L., 1982 [65]
Хронический нефротический синдром, протеинурия (повышенное выведение ЦП с мочой)	Wolf P. L., 1982 [65]
Хроническое алкогольное отравление	Wolf P. L., 1982 [65]
II. Состояния с повышенным содержанием ЦП в крови	
Некоторые болезни печени	Krasnowska M. et al., 1985 [66]
Онкологические заболевания	Senra V. A. et al., 1997 [67], Chakraborty P.K. et al., 1984 [68]
Воспалительные процессы: туберкулез, воспаление легких, ревматические состояния, язвенный колит	Wolf P. L., 1982 [65], Dalekos G.N., 1998 [69]
Беременность	Denko C. W., 1979 [70]
Инфаркт миокарда	Versieck J. et al., 1975 [71]
Стрессовые состояния	Schreiber V. et al., 1978 [72]

Установлено, что уровень ЦП в сыворотке крови значительно возрастает при различных инфекционных заболеваниях, остром и хроническом воспалительных процессах, сопровождающихся деструктивными и некротическими изменениями в тканях, при злокачественном опухолевом росте [64-73].

4. Изменение концентрации церулоплазмينا в организме при неопластических процессах.

Диагностическая и прогностическая ценность определения концентрации ЦП при неопластических состояниях активно исследуется на протяжении последних 20 лет.

В 1984 г. Chakraborty с соавт. [68] представили результаты исследования концентрации ЦП в сыворотке крови 145 пациентов с различными злокачественными опухолями до и после лечения с использованием различных схем радио- и химиотерапий. Концентрация ЦП была достоверно повышена у больных по сравнению со здоровыми людьми. Кроме того, теми же авторами была выявлена корреляционная зависимость между концентрациями ЦП и клиническим состоянием пациентов. Стабилизация уровня ЦП и его последующее снижение отмечалось у пациентов, реагирующих на терапию. И, напротив, увеличение концентрации ЦП наблюдалось в тех случаях, когда проводимая терапия была неэффективна. Значительное увеличение концентрации ЦП и меди было показано при злокачественных опухолях вульвы, яичников, цервикального канала и тела матки [74]. При меланоме уровень ЦП достоверно увеличивался по сравнению с контрольной группой [75]. Он также возрастал у детей и взрослых с солидными опухолями и снижался у них во время ремиссии [76]. Увеличение содержания

ЦЕРУЛОПЛАЗМИН ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

сывороточного ЦП также было отмечено при раке молочной железы [77], глиомах [78], лейкоплакии слизистой оболочки полости рта и покровноклеточной карциноме [79]. Высокие уровни ЦП были обнаружены при множественной миеломе. Они коррелировали с тяжестью заболевания и средней продолжительностью жизни пациентов [80].

Уровень ЦП в сыворотке крови изучался как возможный диагностический фактор или онкомаркер. Senra Valera с соавт. [67], используя метод математического анализа кривых распределения, сопоставили показатели ЦП в сыворотках крови у мужчин и женщин и показали, что ЦП является более чувствительным и специфичным показателем обнаружения солидных опухолей у мужчин. Авторами были предложены предельные значения сывороточных концентраций ЦП, при которых велика вероятность наличия опухоли. Согласно данным Onizuka и соавт. [81], снижение сывороточного ЦП происходило в процессе радиотерапии рака шейки матки. Авторы установили отрицательную корреляцию между уровнем ЦП и продолжительностью жизни пациенток после операции и последующей радиотерапии.

Однако, несмотря на значительное количество работ, в которых сообщалось об увеличении содержания и активности ЦП в сыворотке крови, при базальноклеточной карциноме выявлено снижение количества ЦП, а также аскорбиновой кислоты, α -токоферола, тиоловых групп, уратов, глутатиона, альбуминов [82]. Авторы предлагают рассматривать данное понижение как снижение общей антиоксидантной активности сыворотки крови.

Неоднозначные данные получены при доброкачественных новообразованиях женской репродуктивной системы. Pulaу и соавт. [83] отмечали при миоме матки значительную индивидуальную вариабельность сывороточного содержания ЦП. Согласно сообщению Tatra [84], этот показатель увеличивается. По нашим данным, при миоме матки отмечается тенденция к увеличению концентрации ЦП, но отличия от контрольной группы недостоверны [85]. Доброкачественные опухоли яичников (цистаденомы) сопровождалось выраженным увеличением количества ЦП. При раке эндометрия и злокачественных опухолях яичников (аденокарциномы) также выявлено увеличение концентрации ЦП. Полученные нами данные об увеличении концентрации ЦП при раке эндометрия и злокачественных новообразованиях яичников полностью согласуются с результатами других авторов [86, 87].

Таким образом, по результатам многочисленных исследований, злокачественные новообразования тела матки и неоплазии яичников, так же как и другие солидные и несоллидные опухоли, сопровождаются увеличением содержания ЦП в сыворотке крови.

5. Роль церулоплазмينا в иммунологических реакциях.

Нарушение противоопухолевого иммунитета является ведущим патогенетическим фактором в развитии новообразований. С другой стороны, растущая опухоль обладает иммуносупрессивными свойствами.

Для нормального развития и функционирования иммунной системы важны многие микроэлементы. При исследовании сывоток крови пациентов с язвенным колитом были выявлены положительные корреляции между содержанием ЦП, меди и компонентами комплемента С3, С4 [69]. С другой стороны, изучение влияния ЦП на митоген-индуцированную пролиферацию лимфоцитов и продукцию иммуномедиаторов мононуклеарами периферической крови *in vitro* выявило неоднозначный характер действия этого белка [88]. У большинства доноров он снижал активность тимидинкиназы на 8-36% как в интактных, так и в стимулированных клетках. Использование высоких концентраций ЦП приводило к снижению уровня IL-1 β , TNF α , IFN и IL-8, но не IL-6, который запускает его собственный синтез в печени. Полученные результаты дают основание предполагать, что ЦП способствует формированию гуморального иммунного ответа и влияет на реакции воспаления в тканях. Это подтверждается

результатами исследования действия ЦП на развитие экспериментального миозин-индуцированного повреждения миокарда у мышей, подобного аутоиммунному заболеванию дилатационной кардиомиопатии (ДКМП) человека [89]. Мышей иммунизировали миозином из миокарда больных, умерших в результате прогрессирующей сердечной недостаточности. Затем мышам проводили терапию ЦП в различных дозах и исследовали морфологические изменения миокарда и уровень антител к миозину в крови. Применение ЦП независимо от дозы приводило к выраженному снижению уровня АТ как против человеческого миозина, так и против мышинного миозина [89].

Иммуностимулирующее действие ЦП было показано как при вирусных заболеваниях, так и при неопластических процессах. Применение экзогенного ЦП в остром периоде вирусного инфекционного процесса уменьшает иммунодепрессивное действие вируса и увеличивает резистентность подопытных животных к вирусу гриппа [90]. Экспериментальные исследования показали, что ЦП замедляет и до определенной степени препятствует проявлению иммунодепрессивного действия растущей опухоли. При этом ЦП активирует практически все компоненты, принимающие участие в элиминации опухолевых клеток из организма: специфические Т-киллеры, эффекторы антитело-зависимой клеточной цитотоксичности, мононуклеарные фагоциты [91, 92].

В противоопухолевой защите организма значительная роль принадлежит моноцитам. По данным Сенюк и соавторов, их фагоцитарная активность регулируется ЦП, причём модуляция процесса зависит от высоты исходного уровня определяемых иммунологических параметров [93]. ЦП усиливает реакцию бласттрансформации лимфоцитов, повышает уровень сАМР и снижает уровень сGMP в иммунокомпетентных органах экспериментальных животных-опухоленосителей [94]. Установлено протекторное действие ЦП на ранних этапах химического канцерогенеза; ЦП дозозависимо ингибирует рост быстрорастущих опухолевых клеток [95].

Возможный механизм двойственного влияния ЦП на опухолевый рост приведен на рисунке 2.

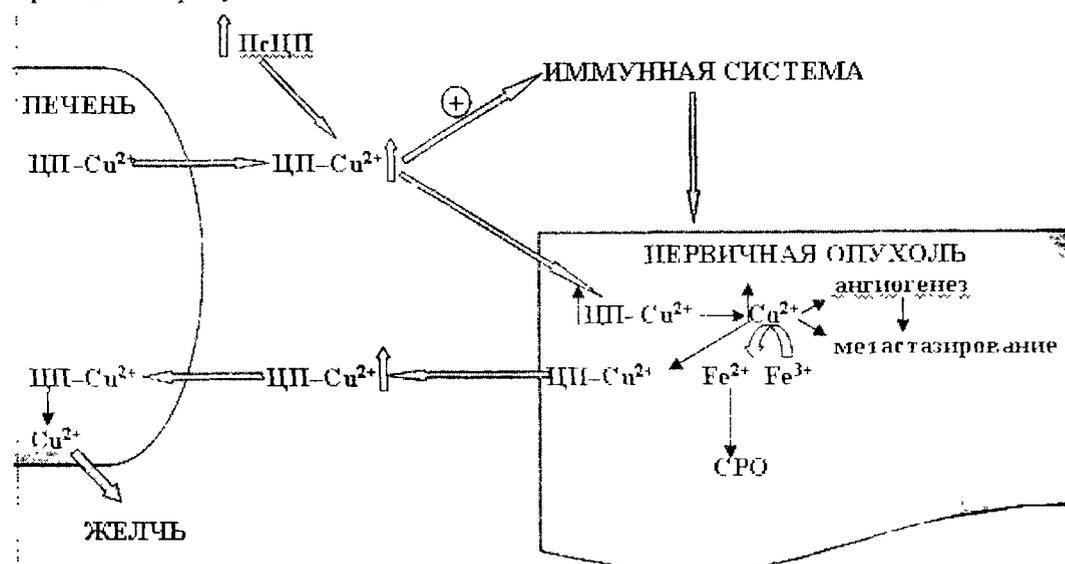


Рисунок 2.

Возможный механизм двойственного влияния церулоплазмينا на опухолевый рост. ЦП-Cu²⁺ поставляет Cu²⁺ в опухолевые клетки, которые требуют его повышенного количества для новообразования сосудов. Ионы Cu²⁺ в опухолевой клетке связываются с церулоплазмином и транспортируются в печень. В печени из ЦП-Cu²⁺ освобождаются ионы Cu²⁺, которые выводятся с желчью. ЦП индуцирует иммунную систему. В ответ на повышение ЦП в плазме крови увеличивается количество белков, связывающих ЦП (ПсЦП), так называемых антител к ЦП.

ЦЕРУЛОПЛАЗМИН ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

6. Роль церулоплазмينا в терапии онкологических заболеваний.

Выявленные эффекты ЦП по стимуляции иммунной системы и уменьшению воспалительной реакции позволили применить его в комплексной терапии онкологических заболеваний как для иммунологической коррекции в период предоперационной подготовки, так и для стимуляции гемопоэза и детоксикации [57].

Одним из современных направлений в лечении солидных опухолей является разработка препаратов, избирательно связывающих ионы меди [96]. Тем самым, ограничивается поступление меди в опухолевые клетки. В 1972 г. Folkman показал [97], что клетки опухолей предпочитают накапливать медь. Ион Cu^{2+} является кофактором различных факторов роста. Это необходимый элемент васкуляризации опухоли (ангиогенеза), обеспечивающий ее прорастание в окружающие ткани, активный рост и увеличение массы [98]. Применение препаратов, специфически связывающих ионы меди, препятствует васкуляризации и метастазированию опухоли [96]. Эффективность данной терапии была показана в ряде экспериментов. Так, на модели чешуйчатоклеточной карциномы мышей исследовали эффективность одного из хелаторов меди - тетрадиолибдата (ТМ). Определение уровня ЦП в крови мышей, как показателя общего содержания меди в организме, выявило, что у мышей, получавших ТМ, общее содержание меди в организме было снижено на 28% от исходного уровня. При этом средний объем опухоли уменьшался в 4,7 раза, а плотность капилляров в опухоли снижалась на 50% [99].

Клинические испытания связывающих медь препаратов также показали обнадеживающие результаты при лечении пациентов с множественными метастатическими опухолями. Искусственно вызванное снижение концентрации ионов меди сопровождалось снижением концентрации ЦП у этих пациентов [100].

Известно, что применение ЦП в терапии опухолевых заболеваний связано также с его антиоксидантными свойствами: снижением уровня перекисного окисления липидов и предотвращением образования свободных радикалов [101, 102].

Однако, в ряде работ показано, что при окислительном стрессе ЦП может, напротив, усиливать реакции свободного окисления. [103, 104]. Участие ЦП в образовании активных форм кислорода было выявлено при исследовании механизма действия ингибитора ангиотензинпревращающего фермента каптоприла, обладающего также цитотоксическим действием [103]. Данный препарат наиболее эффективно повреждал ДНК клеток линии Hs578T карциномы эпителия протоков человеческой молочной железы в присутствии насыщенного медью ЦП или субфизиологических концентраций солей меди. При этом происходило уменьшение поглощения тимидина и наблюдалось дозозависимое снижение числа клеток. При выращивании клеток в присутствии одного каптоприла, а также солей железа и трансферрина изменения были незначительны. В то же время добавление каталазы и пероксидазы снимало цитотоксический эффект сочетания каптоприла и меди. Вероятно, эти эффекты обусловлены образующейся H_2O_2 . В присутствии ЦП происходило Cu -зависимое окисление каптоприла, приводящее к образованию H_2O_2 и свободнорадикальному повреждению ДНК в раковых клетках [103]. Кроме того, в ряде экспериментов *in vitro* было показано, что в присутствии H_2O_2 происходят конформационные изменения ЦП и освобождение Cu^{2+} , приводящие к разрывам цепей ДНК [104]. Этот процесс ингибировали соединения, связывающие гидроксильные радикалы: маннитол, хелатные соединения металлов и каталаза. Авторы предположили [104], что для повреждения ДНК необходима система $\text{H}_2\text{O}_2/\text{ЦП}$, генерирующая OH^\cdot радикалы при освобождении Cu^{2+} из конформационно измененного ЦП.

Таким образом, следует отметить, участие ЦП в противоопухолевой защите, с одной стороны, и процессах метастазирования с другой стороны, а также его способность предотвращать, а при определенных условиях, напротив, усиливать реакции свободнорадикального окисления. В связи с такой полифункциональностью ЦП можно ожидать, что увеличение содержания ЦП в

крови при злокачественных новообразованиях сопровождается продукцией факторов, регулирующих его активность [105]. Логично было предположить, что такими факторами могут быть и антитела к ЦП.

7. Изменение титров антител к церулоплазмину при онкогинекологических заболеваниях.

Нами было проведено исследование титров антител к ЦП как в сыворотках здоровых женщин, так и пациенток с доброкачественными и злокачественными неоплазиями репродуктивной системы. Несмотря на значительные колебания исследуемого параметра, некоторое увеличение титров антител к ЦП отмечалось при всех видах патологии, но при злокачественных неоплазиях изменения были наиболее выражены. Корреляционный анализ показал, что при неоплазиях, связанных с железистой тканью (раке эндометрия, доброкачественных и злокачественных опухолях яичников) возрастание концентрации ЦП сопровождается увеличением титров АТ к нему [85].

Полученные результаты согласуются с данными о продукции антител к биополимерам при ряде патологических состояний: астма, тиреоидит, рассеянный склероз, миокардит [106]. Можно предположить, что наблюдаемое нами увеличение титров АТ к ЦП при опухолях железистого происхождения является защитным механизмом, ограничивающим распространение процесса. Возможно, увеличение количества антител к ЦП необходимо для блокирования транспортной функции этого белка при опухолевом ангиогенезе. Существование положительной корреляционной зависимости между концентрацией ЦП и уровнем АТ к нему, возможно, отражает механизм регуляции функционирования этого белка при данных патологиях.

Увеличение концентрации ЦП при онкологических заболеваниях, воспалительных процессах и остром инфаркте миокарда, по всей видимости, связано с его антиоксидантными свойствами, поскольку при этих заболеваниях наблюдается усиленное генерирование свободных радикалов. Изучение роли свободнорадикального окисления в деятельности здорового организма и в развитии патологических процессов свидетельствует о неоднозначности характера этих реакций в норме и при патологии. Исследования последних лет выявили связь между свободнорадикальным окислением и апоптозом [106]. Конечный эффект свободнорадикального окисления зависит от соотношения про- и антиоксидантов [107, 108]. ЦП является одним из основных антиоксидантов сыворотки крови, препятствующим образованию активных форм кислорода благодаря своей оксидазной и ферроксидазной активностям. Но он сам может подвергаться действию OH^\cdot радикалов. При этом ионы Cu^{2+} из конформационно измененного ЦП участвуют в образовании новых OH^\cdot -радикалов. Увеличение титров антител к ЦП при злокачественных неоплазиях может отражать процесс регуляции соотношения этого антиоксиданта и свободных радикалов.

Известно, что ЦП является иммуномодулятором. Но его взаимодействие с иммунной системой организма, особенно при иммуносупрессивном действии растущей опухоли, носит сложный характер и требует дальнейшего изучения. На поверхности иммунокомпетентных клеток есть рецепторы к ЦП [35]. Однако механизм взаимодействия ЦП с этими рецепторами и в частности роль АТ к ЦП в процессе данного взаимодействия не изучены. Можно предположить, что процесс связывания ЦП с рецепторами различных клеток и осуществления им защитной роли конкурентно ингибируют вырабатываемые антитела. Нельзя исключить образование третичного комплекса АТ – ЦП – рецептор, который может нивелировать защитные функции ЦП. Так показано, что при болезни Альцгеймера и преэклампсии увеличение концентрации ЦП не сопровождается увеличением его ферроксидазной активности [109, 110], т.е. ЦП теряет свои антиоксидантные свойства.

С нашим предположением согласуются результаты экспериментов по изучению процесса транспорта меди белками-переносчиками в микросомальных везикулах, выделенных из плаценты человека [111]. Авторы показали, что ЦП

ЦЕРУЛОПЛАЗМИН ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

конкурентно ингибирует транспорт меди, находящейся в составе комплекса Cu-(His)₂ в микросомальные везикулы. Данный эффект специфичен только для ЦП, а апотрансферрин и α₂-макроглобулин не обладали подобным действием. Процесс ингибирования имел сложный характер для кинетической интерпретации. ЦП, меченый изотопом меди ⁶⁷Cu, специфически связывался с везикулами плаценты, однако участок связывания по геометрическим размерам был относительно малым, хотя молекулярная масса выделенного авторами медь-транспортного белка из мембран везикул была очень близка к M_r щелочной фосфатазы и составляла 90000 Да. Также были выделены два мембранных белка с M_r 45000 Да и 40000 Да, которые могут быть продуктами распада большого комплекса, ответственного за транспорт меди через мембрану. Антитела к фрагменту с молекулярной массой 45000 Да блокировали связывание и захват меди из комплекса Cu-(His)₂, что позволило авторам сделать вывод об общем рецепторе на поверхности везикул для связывания ЦП и других медь-транспортных белков.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Проведенный анализ литературных данных показывает, что ЦП является физиологически важным медьсодержащим гликопротеином. Хорошо охарактеризована структура и физико-химические свойства ЦП. Он участвует в транспорте меди и способен катализировать окисление большого числа соединений. Это определяет, в свою очередь, не до конца выясненные физиологические действия ЦП.

Концентрация ЦП в крови человека меняется в зависимости от общего состояния организма. ЦП используется для лечения пациентов при ряде патологических состояний, включая злокачественные новообразования. В то же время, остается открытым вопрос о механизмах регуляции его активности и содержания данного белка в организме, а также возможности использования его в качестве онкомаркера и в качестве прогностического теста.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Holmberg Y.C.G., Laurell C.B., Scand J.* (1951) Clin. Lab. Invest. **3**, 103-107.
2. *Lindley P. F., Zaitseva I., Zaitsev V., Card G., Moshkov K., Ba B.* (1997) In: Multi-Copper Oxidases (Messerschmidt, A., Ed.) World Scientific, Singapore, New Jersey, London, Hong Kong, pp. 81-103
3. *Messerschmidt A., Rossi A., Ladenstein R., Huber R., Bolognesi M., Guiseppina G., Marchesini A., Petruzzelli R., Finazzi-Agro A.* (1989) J. Mol. Biol., **206**, 513.
4. *LaFayette P.R., Eriksson K.-E.L., Dean J.F.D.* (1995) Plant Physiol., **107**, 667-668.
5. *Aramayo R., Timberlake W.E.* (1990) J. Am. Chem. Soc., **18**, 3415.
6. *Dawson J.H., Dooley D.M., Gray H.B.* (1978) Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A., **75**, 4078-4081.
7. *Spira-Solomon D.J., Allendorf M.D., Solomon E.I.* (1986) J. Amer. Chem. Soc., **108**, 5318-5328.
8. *Allendorf M.D., Spira D.J., Solomon E.I.* (1985) Proc. Natl. Acad.Sci. USA., **82**, 3063-3067
9. *Messerschmidt A., Ladenstein R., Huber R., Bolognesi M.* (1992) J. Mol. Biol., **225**, 179-205.
10. *Cole J.L., Tan G.O., Yang E.K., Hogson K.O., Solomon E.I.* (1990) J. Amer. Chem. Soc., **112**, 2248-2249.
11. *Holtzman N.A., Gaumnitz B.M.* (1970) J. Biol. Chem., **245**, 2350-2353.
12. *Pan Y., Katula K., Failla M.L.* (1996) Biochim. Biophys. Acta, **1307**, 233-238
13. *Гайцхоки В.С., Воронина О.В., Денежкина В.В., Плисс М.Г., Пучкова Л.В., Шварцман А.Л., Нейфхас С.А.* (1990) Биохимия, **55**, 927-937
14. *Klomp L.W., Gitlin J.D.* (1996) Hum. Mol. Genet., **5**, 1989-1996.
15. *Yang F., Frichichs W.E., De Graffenried L., Herbert D.C., Weaker F.J., Bowman B.H., Calson J.J.* (1996) Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., **14**, 161-169.

16. *Thomas T., Macpherson A., Rogers P.* (1995) *Biochim. Biophys. Acta*, **1261**, 77-82.
17. *Нейфах С.А., Алейникова Т.Д., Гайцхоки В.С.* (1979) Докл. АИ СССР, **244**, 238-240
18. *Ryden L.* (1971) *Int. J. Protein. Res.*, **8**, 191-200.
19. *Winterburn P.J., Phelps C.F.* (1972) *Nature*, **236**, 147-151
20. *Morell A.G., Gregoriadis G., Scheinberg I.H.* (1971) *J. Biol. Chem.*, **246**, 1461-1467
21. *Пучкова Л.В., Сашина Л.К., Алейникова Т.Д., Захарова Е.Т., Гайцхоки В.С.* (1997) *Биохимия*, **62**, 817-825
22. *Hilton M., Spenser D.S., Ross R., Ramsey A.* (1995) *Biochim. Biophys. Acta*, **245**, 153-160.
23. *Ryden L.* (1984) In: *Copper protein and copper enzymes. Florida*, pp 37-100
24. *Katsunuma H.* (1961) *Jap. J. Clin. Med.*, **19**, 424
25. *Verbina A.A., Puchkova L.V., Gaitskhoki V.S., Neifakh S.A.* (1992) *FEBS Lett.*, **298**, 105-108.
26. *Gutteridge J.M.C.* (1986) *Biochim. Biophys. Acta*, **869**, 119-127
27. *Guarnieri C., Ventura C.* (1985) *Bios. Rep.*, **5**, 473-476
28. *Долгов В., Морозова В., Марцишевская Р., Мадрала А., Якубовский З., Кабата И., Калиновский Л., Щепаньска-Конкель М., Ангельский С.*, (1995) в кн. "Клинико-диагностическое значение лабораторных показателей" Лабинформ, Центр М., 43.
29. *Dini L., Carbonaro M., Musci G., Calabrese L.* (1990) *Eur. J. Cell. Biol.*, **52**, 207-212
30. *Alcain F., Low H., Crane F.L.* (1991) *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **186**, 951-955
31. *Patel B.N., David S.* (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20185-20190
32. *Barnes G., Frieden E.* (1984) *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, **125**, 157-162
33. *Kataoka M., Tavassoli M.* (1985) *Exp. Hematol.*, **13**, 806-810
34. *Stevens M.D., DiSilvestro R.A., Harris E.D.* (1984) *Biochemistry*, **23**, 261-266
35. *Floris G., Medda R., Padiglia A., Musci G.* (2000) *Biochem. Pharmacol.*, **60**, 1735-1741
36. *Musci G., Fraterrigo Terri Z. L., Calabrese L., McMillin D. R.* (1999) *J. Biol. Inorg. Chem.*, **4**, 441-446.
37. *Morita H., Ikeda S., Yamamoto K., Morita S., Yoshida K., Nomoto S., Kato M., Yanagisawa N.* (1995) *Ann. Neurol.*, **37**, 646.
38. *Okamoto N., Wada S., Oga T., Kawabata Y., Baba Y., Habu D., Takeda Z., Wada Y.* (1996) *Human Genetics*, **97**, 755-758
39. *Medda R., Calabrese L., Musci G., Padiglia A., Floris G.* (1996) *Biochem. Mol. Biol. Int.*, **38**, 721-728
40. *Park Y.S., Suzuki K., Mumby S., Taniguchi N., Gutteridge J. M.* (2000) *Free Radic. Res.*, **33**, 261-265.
41. *Yoshida K., Kaneko K., Miyajima H., Tokuda T., Nakamura A., Kato M., Ikeda S.* (2000) *J. Neurol. Sci.*, **175**, 91-95.
42. *McCosker P. J.* (1961) *Nature*, **190**, 887-889.
43. *Evans G.W.* (1973) *Physiol. Rev.*, **53**, 535-570.
44. *Broman L.* (1967) In: *Molecular Basis of some Aspects of Mental Activity. New York*, Vol. **2**, pp. 131-146.
45. *Prohaska J.R., Hoffman R.G.* (1996) *J.Nutr.*, **126**, 618-627
46. *Davis W., Chowrimootoo G.F., Seymour C.A.* (1996) *Eur. J. Clin. Invest.*, **10**, 893-901.
47. *Cartwright G.E., Gubler C.J., Buch J.A.* (1956) *Blood*, **11**, 143-153
48. *Ragen H.A., Nacht S., Lee G.R.* (1969) *Amer. J. Physiol.*, **217**, 1320-1323.
49. *Lee G.R., Cartwright G.E., Wintroze M.M.* (1968) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **127**, 977-981.
50. *Williams D.M., Lill G.R., Cartwright G.E.* (1974) *Amer. J. Physiol.*, **227**, 1094-1097
51. *Urbach F.L.* (1981) *Metal Ions in Biological Systems*, **13**, 173-215
52. *Chidambaram M.V., Barnes G., Frieden E.* (1983) *FEBS Lett.*, **159**, 137-140
53. *Yoshida K., Furihata K., Takeda S., Nakamura A., Yamamoto K., Morita H., Hiyamuta S., Ikeda S., Shimizu N., Yanagisawa N.* (1995) *Nature Genetics*, **9**, 267

ЦЕРУЛОПЛАЗМИН ПРИ НЕОПЛАСТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ

54. *Patel B.N., David S.* (1997) *J. Biol. Chem.*, **272**, 20185-20190
55. *Boll M.C., Sotelo J., Otero E., Alcaraz-Zubeldia M., Rios C.* (1999) *Neurosci. Lett.*, **265**, 155-158
56. *Torsdottir G., Kristinsson J., Sveinbjornsdottir S., Snaedal J., Johannesson T.* (1999) *Pharmacol. Toxicol.*, **85**, 239-243.
57. Коваленко В.Н, Викторов А.П. (1997) в *Pharmindeks'97* Морион, К. 1050
58. *Gutteridge J.M.C., Richmond R., Halliwell B.* (1980) *FEBS Lett.*, **112**, 262-272.
59. *Bannister J.V., Bannister W.H., Hill H.A.O.* (1980) *FEBS Lett.*, **118**, 127-129.
60. *Sergeev A., Pavlov A., Revina A., Yaropolov A.* (1993) *Int. J. Biochem.*, **25**, 1549-1554.
61. *Connor J. R., Benkovic A.* (1992) *Ann. Neurol.*, **32**, 51.
62. *Miyajima H., Takahashi Y., Kono S.* (2003) *Biometals*, **16**, 205-213
63. *Gool P.J* (1980) *Ned. Tijdscher. Geneesk.*, **124**, 869-876
64. *Лекарь П.Г., Макарова Б.А.* (1984) Гепатоцеребральная дистрофия. Л., 206
65. *Wolf P.L.* (1982) *Crit. Rev. Clin. Lab. Sci.* **17**, 229-245.
66. *Krasnowska M., Cieslinska A., Jankowska R. et al.* (1985) *Wiad. Lek.*, **38**, 1420-1424.
67. *Senra Valera A., Lopez Saez J.J., Quintela Senra D.*, (1997) *Cancer Lett.*, **121**, 139-145.
68. *Chakraborty P.K., Ghosh A., Chowdhury J.R.* (1984) *Acta Med. Okayama*, **40**, 103-105
69. *Dalekos G.N., Ringstad J., Savaidis I., Seferiadis K.I., Tsianos E.V.* (1998) *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, **10**, 331-337.
70. *Denko C.W.* (1979) *Agents and Actions*, **9**, 333-336.
71. *Versieck J., Barbier F., Speeche A.* (1975) *Clin. Chem.*, **21**, 578-581.
72. *Schreiber V., Pzibyl T.* (1978) *Physiol. Bohemosl.*, **27**, 301-307
73. *Санина О.Л., Бердинских Н.К.* (1986) *Вопр. мед. химии*, **32**, 7-14
74. *Cetinkaya N., Cetinkaya D., Yuce M.* (1988) *Biol. Trace Elem. Res.*, **18**, 28-38.
75. *Ros-Bullon M.R., Sanchez-Pedreno P., Martinez-Liarte J.H.* (2001) *Anticancer Res.*, **21**, 629-632.
76. *Balcerska A., Stachowicz-Stencel T., Lysiak-Szydłowska W.* (2000) *Wiad. Lek.*, **53**, 128-133
77. *Vaidya S.M., Kamalakar P.L.* (1998) *Ind. J. Med. Sci.*, **52**, 184-187.
78. *Rao G.M., Rao A.V., Raja S., Rao A.* (2000) *Clin. Chim. Acta*, **269**, 203-212
79. *Jayadeep A., Raveendran P.K., Kannan S., Nalinakumari K.R., Mathew B., Krishan N. M., Menon V.P.* (1997) *J. Exp. Cancer. Res.*, **16**, 295-300.
80. *Bessmeltsev S.S., Rybakova L.P., Gritskevitch N.L., Golota G.B., Blinov M.N., Abdulkadirov K.M.* (1999) *Vopr. Onkol.*, **45**, 398-404.
81. *Onizuka K., Migita S., Yamada H., Umemura Y., Kuroki M., Tateyama H.*, (1994) *Nip. Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi*, **54**, 1007-1017
82. *Vural P., Canbaz M., Selcuki D.* (1999) *J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol.*, **13**, 96-101.
83. *Pulay T., Csomor S., Kovacs I., Szarka G., Somos P.* (1988) *Acta Chir. Hung.*, **29**, 305-314
84. *Tatra G.* (1985) *Strahlentherapie*, **161** (8) 487-491
85. *Гусарова Ю.Н., Степанова Е.В., Ландесман Е.О., Королева О.В., Вавилова Т.П., Макаров О.В., Косецкий В.Н.* (2002) *Вопр. мед. химии*, **48**(4) 388-393.
86. *Brandes J.M., Lightman A., Drugan A., Zinder O., Cohen A., Itskovtitz J.* (1983) *Acta Obstet. Gynecol. Scand*, **62**, 225-229.
87. *Warwas M., Dobryszczycka W., Gerber J., Pietkiewicz A.* (1981) *Neoplasma*, **28**, 485-490
88. *Полевицкий А.В., Медведский М.А., Захарова Е.Т., Шавловский М.М.*, (2001) *Мед. иммунол.*, **3**, 128-129
89. *Сидорик Л.Л., Бобык В.И., Федоркова О.М., Рябенко Д.В., Сергиенко О.В., Трунина И.В., Королева О.В., Степанова О.В., Гусарова Ю.Н., Мацука Г.Х.* (2001) *Биополимеры и клетка*, **17**, 441-448.
90. *Бердинских Н.К., Савцова З.Д., Санина О.Л., Антоненко С.Г.* (1994) *Бюлл. эксп. биол. мед.*, №9, 285-287.

91. Бердинских Н.К., Антоненко С.Г., Волощенко Ю.В., Чеботарёв Е.Е., Гавриш И.Н. (1984) Радиобиология, **24**, 199-203
92. Бердинских Н.К., Исмаилова И.М., Юдин В.М. (1992) Бюлл. эксп. биол. мед., **113**, 520-522
93. Сенюк О.Ф., Скоробогатько О.В., Тарасенко П.Д., Ромашико В.В. Журавец Л.А., Задорожная Л. В., Ярополов А.И. (1994) Биохимия, **59**, 1503-1510.
94. Антоненко С.Г., Бердинских Н.К., Шишко Е.Д., Околот Е.Н. (1985) Вопр. онкол., **31**, 48-51.
95. Король Д.Р. (1988) Защитный эффект церулоплазмينا при введении канцерогенных веществ и опухолевом росте. Автореф. к.м.н, РАМН Киев.
96. Brem S. S., Zagzag D., Tsanaclis A. M. C., Gatley S., Elkouby M. P., Brien S. E. (1990) Am. J. Pathol., **137**, 1121-1142
97. Folkman J. (1972) Ann. Surg., **175**, 409-416.
98. Malonne H., Langer I., Kiss R. et al. (1999) Clin. Exp. Metastasis, **17**, 1-14
99. Cox C., Teknos T.N., Barrios M., Brewer G.J., Dck R.D., Merajver S.D. (2001) Laryngoscope, **111**, 696-701
100. Brewer G., Dick R., Grover D., LeClaire V., et al. (2000) Clinical Cancer, **6**, 1-10.
101. Щепотин И.В., Черный В.А., Бердинских Н.К., Санина О.Л., Барабой В.А., Старосельский И.В., Коробко В.Б., Каменец Л.Я., Яременко Л.Я. (1991) Врачебное дело, **3**, 24-27.
102. Эделева Н.В., Осипова М.А., Немцова Е.Р., Оганесов В.К., Якубовская Р.И., Ветиева М.С., Берсенев В.А. (1997) Анестезиол. Реанимагол., **3** 36-41.
103. Small W., Molteni A., Kim Y.T., Taylor J.M., Tsao C.H., Ward W.F. (1999) Breast Cancer Res. Treat., **55**, 223-229
104. Kim R.H., Park J.E., Park J.W. (2000) Free Radic. Res., **33**, 81-89.
105. Габиров А.Г. (2002) в кн.: V симпозиум. Химия протеолитических ферментов. Москва, с. 15
106. Škulachev V.P. (2000) IUBMB Life, **49**, 365-372
107. Зенсков Н.К., Меньщикова Е.Б., Вольский Н.Н. (1999) Усп. совр. биол., №5, 440.
108. Барышников А.Ю., Шишкин Ю.В. (1996) Росс. онкол. журн., **1**, 58
109. Greatsas G., Vitoratos N., Salamalekis E., Dalamaga N., Kassanos D. (1999) Eur. J. Obstet. Gyn. Reprod. Biol., **84**, 63-67
110. Smith M., Harris P.L.T., Perry G., Castellani R.J., Nunomura A. (1999) Free Rad. Biol. Med., **26**, 1508-1512
111. Ross P., Hilton M., McArdle H.J., Spenser D.C., Ramsey A. (1995) Biochim. Biophys. Acta, **1245**, 153-160

Поступила: 01. 03. 2004 г.

THE ROLE OF CERULOPLASMIN IN NEOPLASTIC PROCESSES

T. P. Vavilova¹, Yu. N. Goussarova¹, O. V. Koroleva², A.E. Medvedev^{1,3}

¹ Moscow State Medical Stomatological University, Delegatskaya 20/1, Moscow, 103473 Russia; e-mail: tpvavilova@yandex.ru

² A.N.Bakh Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninsky prospect 33, Moscow, 119071 Russia

³ V.N.Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Russian Academy of Medical Sciences, Pogodinskaya 10. Moscow, 119121 Russia

Ceruloplasmin (CP) is a copper containing oxidase of human plasma alpha 2-globulin fraction. The review summarizes literature data on biological role of CP under normal conditions and during development of malignant tumor. This protein may be involved both into antitumor defence and also into metastasizing process. Although CP has already been employed into intensive therapy of oncologic patients all mechanisms underlying its biological activity remain to be clarified.

Key words: ceruloplasmin, antibodies against ceruloplasmin, oncologic diseases