

**POCHODNE WANADU JAKO ZWIĄZKI
O ISTOTNYM ZNACZENIU BIOLOGICZNYM.
CZEŚĆ II. WPLYW NA KOMÓRKI NOWOTWOROWE**

**VANADIUM DERIVATIVES
AS COMPOUNDS OF HIGH BIOLOGICAL SIGNIFICANCE.
PART II. EFFECT ON NEOPLASTIC CELLS**

Przemysław HOLKO, Anna Maria KORDOWIAK

Zakład Biochemii Ogólnej, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii,
Uniwersytet Jagielloński, Kraków

Streszczenie: Pochodne wanadu, prócz oddziaływania na wzrost, rozwój i różnicowanie niektórych gatunków oraz własności przeciwcukrzycowych, mogą również wpływać na komórki i indukować ich apoptozę, proliferację czy transformację nowotworową. Działanie to zależy od modelu doświadczenia oraz jego warunków. Związki wanadu mogą działać promująco lub hamująco jako czynniki pro- lub antynowotworowe, tj. wywoływać wzrost lub hamować przeżywalność i proliferację komórek neoplastycznych. Działają na komórki zwierzęce i ludzkie, wpływając jednak nie tylko na komórki nowotworowe, ale również prawidłowe. Wyniki te zostały potwierdzone przez licznych badaczy, jak również w naszych wstępnych doświadczeniach.

Słowa kluczowe: związki wanadu, komórki nowotworowe, działanie pro- i antynowotworowe.

Summary: In addition to their effect on growth, development and differentiation of certain species and antidiabetic activity, vanadium derivatives may also affect cells and induce apoptosis, proliferation or neoplastic transformation. The activity depends on the model of experiments and their conditions. Vanadium compounds may exert a promoting or inhibitory effect as pro- or anticarcinogenous factors, i.e. induce growth or inhibit viability and proliferation of neoplastic cells. These compounds act upon animal and human cells, but their effect involves not only tumor cells, but also normal cells. These results have been confirmed by numerous investigators, as well as in our preliminary experiments.

Key words: Vanadium derivatives, cancer cells, pro- and anticarcinogenic activity.

Wykaz skrótów: **Ahr** – receptor grup arylowo węglowodanowych; **ARNT** – białko transportujące do jądra receptor arylowo węglowodanowy; **Cdc25A** – fosfataza zaangażowana w podziały komórkowe; **COX-2** – cyklooksigenaza 2; **DMH** – 1,2-dimetylohydrazyna; **DSB** – pęknięcia podwójnej nici DNA; **ERKs** – kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym; **H₂O₂** – nadtlenek wodoru; **HIF** – czynnik aktywowany stanem hypoksji; **IL-1** – interleukina 1; **iNOS** – indukowana syntaza tlenku azotu; **MAPKs** – kinazy białkowe aktywowane mitogenami; **Na₃VO₄** – ortowanadan sodu [V(V)]; **NaVO₃** – metawanadan sodu [V(IV)]; **NFAT** – czynnik transkrypcyjny z aktywowanych limfocytów T; **NH₄⁺VO₃⁻** – metawanadan amonu [V(V)];

PGH_2 – prostaglandyna H_2 ; **ROS** – reaktywne formy tlenu; **Rb** – białko retinoblastomy; **TNF- α** – czynnik martwicy nowotworu α ; $[\text{V(IV)}]$ – związek wanadu na +4 stopniu utlenienia; $[\text{V(V)}]$ – związek wanadu na +5 stopniu utlenienia; V_2O_4 – tlenek wanadu IV; V_2O_5 – tlenek wanadu V; **VEGF** – naczyniowy śródbłonkowy czynnik wzrostu; **VL-30** – 30-elementowy czynnik wirusopodobny; VOSO_4 – siarczan wanadylu.

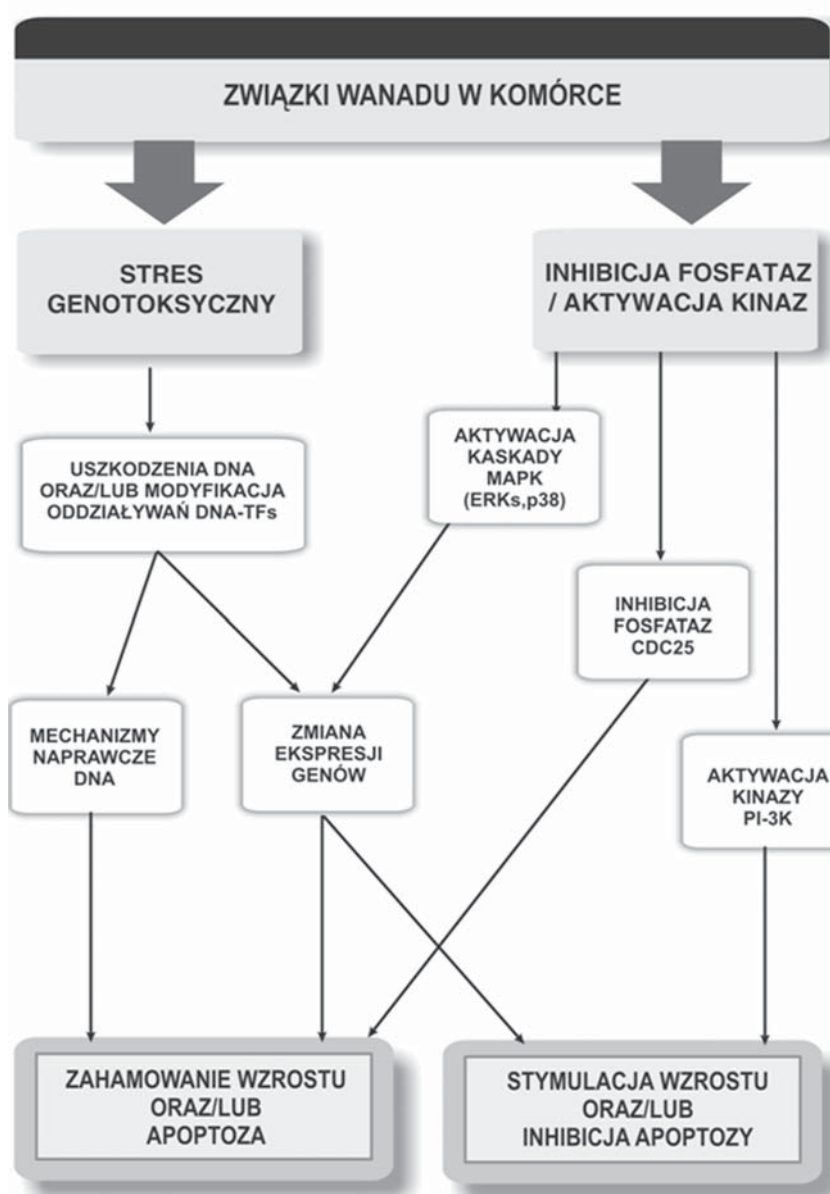
1. WSTĘP

W części I artykułu dotyczącego biologicznej roli wanadu [28] przedstawiono na podstawie badań innych autorów [14,26,36,48] występowanie w przyrodzie tego pierwiastka, jego ważniejsze fizyko-chemiczne własności, wpływ na rozwój i różnicowanie osobników niektórych gatunków. Omówiono związki wanadu występujące u ssaków (w tym człowieka), ich transport w organizmie i możliwość wzajemnych przekształceń wanadu V(IV) i V(V) [32,35]. Ponadto podkreślono możliwość toksycznego działania tego pierwiastka, zwłaszcza w przypadku ekspozycji pracowników przemysłowych, jak również podawania jego związków w celach doświadczalnych oraz leczniczych. Omówiono skuteczność działania organicznych i nieorganicznych pochodnych wanadu w cukrzycy modelowej, wywoływanej u zwierząt w celach doświadczalnych, a także podawanych jako „lek” w insulino-zależnej i insulino-niezależnej postaci cukrzycy pacjentom chorym na tę chorobę metaboliczną. Pierwsza próba takiego zastosowania soli wanadu u cukrzyków miała miejsce w ostatnim roku XIX wieku, zdobywanie informacji dotyczących tego zagadnienia trwało nieprzerwanie w ciągu XX wieku i nadal są wykonywane doświadczenia, które pozwolą precyzyjnie poznać mechanizm normalizującego działania pochodnych tego pierwiastka na kliniczne objawy cukrzycy. Mechanizm ten nadal nie jest do końca jest określony [1,26,33,47,48].

W drugiej połowie XX wieku okazało się, że związki wanadu również działają na komórki nowotworowe oraz prawidłowe i mogą promować lub hamować proces nowotworzenia. Nieuregulowany proces apoptozy jest ważnym czynnikiem w wielu schorzeniach, np. zatruciach wątroby, niedokrwistości, szoku, chorobie serca, nowotworach, AIDS, autoagresji czy chorobach degeneracyjnych układu nerwowego. Tłumienie apoptozy przez czynniki promujące nowotworzenie w preneoplastycznych komórkach jest istotne dla kancerogenezy. Pierwsze dane o chemoprotekcyjnych własnościach wanadu (jako VOSO_4) wobec nowotworu piersi wywołanego przez metylo-1-nitrozomocznik u szczurów ukazały się w 1984 r. [wg 40]. Podanie zwierzętom w płynie do picia VOSO_4 w stężeniu 25 mg/l doprowadziło do redukcji liczby guzów. Działanie związków wanadu na cykl życia komórek jest znacznie słabiej poznane niż w przypadku działania pochodnych wanadu w cukrzycy i tematowi temu poświęcono poniższe opracowanie.

2. WPŁYW WANADU NA KOMÓRKI NOWOTWOROWE

Jak wspomniano we wstępie, związki wanadu prócz roli w rozwoju i różnicowaniu niektórych gatunków oraz działania przeciwcukrzycowego, oddziałują na komórki



RYCINA 1. Odpowiedź komórek na działanie związków wanadu – mechanizm działania bezpośredniego oraz/lub poprzez generowanie reaktywnych form tlenu – ROS (schemat opracowano na podstawie cytowanego piśmiennictwa): TFs – czynniki transkrypcyjne; MAPK – kinazy aktywowane mitogenami; CDC25 – fosfataza zaangażowana w podziały komórkowe; ERKs – kinazy regulowane sygnałem zewnątrzkomórkowym; p38 – białko 38; PI-3K – 3-kinaza fosfatidyloinozytoli

FIGURE 1. Answer of cell on vanadium compounds (direct action or/and through reactive oxygen size ROS generation): TFs – transcription factors; MAPK – mitogen activated protein kinases; CDC25 – cell division cycle 25 homolog, ERKs – Extracellular Regulated Kinase, PI-3K – 3-phosphatidylinositol kinase. The scheme was elaborated from data cited in original papers by many authors (not shown in references of this abstract)

nowotworowe. W zależności od badanego modelu, różni autorzy uzyskiwali często przeciwstawne wyniki, ponieważ w ich doświadczeniach pochodne wanadu mogą działać promująco lub hamująco na proliferację i przeżywalność komórek. Zależy to od kilku czynników, które starano się przedstawić na podstawie piśmiennictwa oraz własnych wstępnych doświadczeń. Schemat działania wanadu w komórce przedstawiono na rycinie 1.

2.1. Działanie kancerogenne wanadu

Wanad, w pewnych warunkach doświadczalnych może mieć działanie kancerogenne [2,3,12,13,20,22,31,37,43,44,49,51,53,54]. Szczególną uwagę należy zwrócić na działanie wanadu u pracowników różnych gałęzi przemysłu (petrochemiczny, stalowy, górniczy, czy chemiczny), narażonych na kontakt z różnymi związkami tego pierwiastka. Badania epidemiologiczne wykazały korelację między ekspozycją pracowników na wanad a częstością występowania u nich nowotworu płuc [2,3,12,50]. Wspomniano o tym w pierwszej części naszego opracowania [28]. Niniejszy artykuł dotyczyć będzie wyłącznie działania pro- i antynowotworowego w warunkach doświadczalnych.

Działanie pochodnych wanadu na komórki prawidłowe oraz neoplastyczne zależy, jak się wydaje, od rodzaju tych komórek, rodzaju użytego w doświadczeniu związku wanadu, czasu ekspozycji na ten pierwiastek oraz od jego stężenia. Cortizo i wsp. [13] badali dwie linie osteoblastów szczurzych: nowotworową UMR106 oraz nienowotworową MC3T3E1. Stwierdzili stymulację wzrostu i działanie antyapoptotyczne w osteoblastach szczurzych przez kompleks wanadu(IV) z askorbinianem w niskim stężeniu (<25 μM). W wyższych stężeniach (50–100 μM) badany kompleks hamował proliferację komórek oraz obniżał aktywność fosfatazy zasadowej, a zatem był cytotoksyczny dla osteoblastów w hodowli i efektywnie wzmagał apoptozę, działając przeciwnowotworowo w badanych warunkach. Podobny efekt wykazano dla związków wanadu z maltolem, aspiryną czy trehalozą. Autorzy sugerują, że działanie wanadu polega na zdolności do stymulowania fosforylacji reszt tyrozynowych w białkach poprzez hamowanie białkowych fosfataz tyrozynowych. Postulowany jest również wpływ na kinazy białkowe stymulowane mitogenem (MAPK), przede wszystkim kinazy regulowane przez sygnał zewnątrzkomórkowy (ERK). Ferrer i wsp. [19] testowali na tych samych dwu liniach komórkowych wpływ kompleksu V(IV)/kwercetyna i wykazali podobne do kwercetyny działanie na komórki prawidłowe i nowotworowe.

Noutsopoulos i wsp. [37] poddawali komórki NIH3T3 działaniu siarczanu wanadylu uzyskując wzrost poziomu retrotranspozycji 30-elementowego wirusopodobnego czynnika VL-30 (znanego czynnika mutagenności). Poziom zmian był zależny od czasu trwania doświadczenia i stężenia użytego związku. W badaniu stwierdzono, że najbardziej aktywny w potencjalnym działaniu kancerogennym był V(IV). Według roboczej teorii autorów aktywacja retrotranspozycji VL-30 odbywałaby się poprzez stres oksydacyjny związany ze zwiększoną produkcją H_2O_2 . Jest to prawdopodobnie mechanizm uszkodzeń DNA prowadzący do mutagenyzy, niezależny od uszkodzeń podwójnej nici DNA, tak zwanych DSB (ang. *Double Strain Breaks*).

Natomiast Valko i wsp. [53] postulują działanie metali, w tym wanadu, jako pewnego rodzaju katalizatora w produkcji wolnych rodników, które może w konsekwencji prowadzić do uszkodzeń DNA w komórkach prawidłowych i w efekcie wywołać proces nowotworzenia.

Z kolei badania Fritza i wsp. [20], dotyczące szczurzej prostaty wykazały, że organizm może mieć pewne mechanizmy obronne przeciwdziałające potencjalnemu, proonkogenicznemu działaniu pochodnych wanadu. Autorzy ci wykazali, że wanad może zwiększać ilość cząsteczek naczyniowego śródbłonkowego czynnika wzrostu (VEGF). Zależność ta ma charakter liniowy pomiędzy ilością podawanego wanadu a poziomem wytworzonego VEGF. Działanie takie może być uznane za niekorzystne dla organizmu, ponieważ zwiększone ilości VEGF mogą indukować neowaskularyzację rosnącego nowotworu. Okazało się, że szczep szczurów mający białko Ahr, które jest receptorem grup arylo-węglowodanowych, (ang. *Aryl hydrocarbon receptor*) wykazywał istotny statystycznie mniejszy wzrost guzów nowotworowych niż szczep szczurów bez obecności analizowanego receptora. Proponowany mechanizm działania badanego białka polega na jego połączeniu (lub innej nieznannej jeszcze interakcji) z białkiem ARNT, transportującym receptor Ahr do jądra (ang. *Aryl Hydrocarbon Receptor Nuclear Translocator*). W normalnych warunkach w rozrastającym się guzie raka szczurzej prostaty, białko ARNT, jeden z wielu czynników transkrypcyjnych, dimeryzuje z czynnikiem indukowanym HIF 1 alfa (ang. *Hypoxia inducible factor 1 alpha*), wskutek czego następuje również zwiększona ekspresja VEGF. Białko Ahr poprzez połączenie z ARNT blokuje powstawanie dimerów ARNT/HIF 1 α , wskutek czego nie następuje ekspresja i wzrost stężenia VEGF w pobliżu guza i zostaje utrudniona lub uniemożliwiona waskularyzacja rosnącego nowotworu. Wykazano, że w szczepie szczurów z zablokowanymi obydwoma allelami genu, odpowiedzialnego za wytworzenie białka Ahr(-/-), poziom VEGF jest znacznie wyższy, a więc tworzenie nowych naczyń krwionośnych w guzie jest dużo łatwiejsze [20].

Rodriguez-Mercado i wsp. [44] wykazali cytotoksyczny i cytostatyczny wpływ V_2O_4 na hodowle limfocytów i leukocytów ludzkich. Podczas gdy mitogenne działanie wanadu na komórki drożdży było znane z piśmiennictwa, jego wpływ na komórki ssaków nie był oczywisty. W badaniach *in vivo* i *in vitro* V_2O_4 pogarsza wymianę między siostrzanymi chromatydami i strukturalne aberracje chromosomów. Powoduje wzrost częstości pojawiania się mikrojąder i komórek poliploidalnych, zmniejszenie indeksu mitotycznego oraz indukuje pęknięcia w pojedynczych niciach DNA, podobnie jak krzyżowe wiązania DNA-białko. Autorzy ci potwierdzili w swej pracy wnioski innych badaczy i stwierdzili, że V_2O_4 generuje tlen reaktywny, co może mieć znaczącą rolę w toksycznym działaniu tego pierwiastka i indukowaniu aberracji chromosomowych.

Uszkodzenia DNA w zdrowych komórkach człowieka, które mogą potencjalnie zapoczątkować procesy mutagenne i kancerogenne, są powiązane z działaniem telomerazy. W badaniach. Glaviano i wsp. [22] wykazano, że działanie wanadu na +5 stopniu utlenienia [V(V)] na prawidłowe ludzkie fibroblasty powoduje uszkodzenia DNA w postaci aneuploidii, ale bez powstania poważnych uszkodzeń wewnątrz

chromosomów. Działanie genotoksyczne wanadu wiązało się także z tworzeniem chromosomów dicentrycznych, mostków nukleoplazmowych oraz dużych uszkodzeń chromosomów, na skutek których powstają tzw. twory mikrojądrowe. W strukturach tych część chromosomu zostaje trwale obłoniona i funkcjonuje w komórce jak „dodatkowe jądro”. Stwierdzono, że takie uszkodzenia są trwałe, gdyż były wykrywane nawet po 30 dniach od podania badanego związku i nie są do końca w sposób skuteczny naprawiane. Działanie genotoksyczne wanadu było częściowo kontrolowane i redukowane w komórkach fibroblastów z aktywną telomerazą. Ponadto stwierdzono, że uszkodzenia genomu związane z działaniem wanadu są zróżnicowane, w zależności od sposobu hodowli komórek (w postaci kolonii rosnącej w półpłynnym agarze lub trwale przyczepionej do płytki) [22].

Wozniak i Błasiak [55] badając prawidłowe limfocyty ludzkie i komórki nowotworowe HeLa, stwierdzili genotoksyczność siarczanu wanadyli (VOSO_4) zarówno wobec nowotworowych (w stężeniu 0,05–1 mM), jak i nienowotworowych (w stężeniach 0,1; 0,5 i 1,0 mM) komórek. VOSO_4 powodował fragmentację DNA, pęknięcia pojedynczych i podwójnych łańcuchów oraz oksydacyjne modyfikacje, przy czym działanie wobec komórek HeLa było znacznie silniejsze. Witaminy A, C i E znacznie wzmagają ten proces. Należy zaznaczyć, że naprawa uszkodzeń DNA jest również bardziej efektywna w komórkach nowotworowych niż w badanych limfocytach. Autorzy stwierdzili utlenianie puryn pod wpływem VOSO_4 i przypisują jego genotoksyczne działanie stresowi oksydacyjnemu, generującemu aniony nadtlennkowe przez aktywację białka p38 należącego do kinaz MAPK.

Leopardi i wsp. [31] stwierdzili statystycznie istotny wzrost mikrojąder w szpiku kostnym samców myszy CD-1, którym podawano w wodzie do picia 0,75–1500 mg/l Na_3VO_4 przez 5 tygodni. Autorzy wskazują, że związki V(V) wywierają efekt genotoksyczny w badaniach *in vivo* w stosunkowo dużych dawkach. Ress i wsp. [43] opisali poprzednio wzrost ilości powstawania guzów w układzie oddechowym myszy i szczurów eksponowanych na oddychanie powietrzem z pięciotlenkiem wanadu (V_2O_5), wskutek czego tę pochodną wanadu zakwalifikowano jako „potencjalnie nowotworową dla ludzi”. Dalsze badania Villani i wsp. [54] dotyczyły weryfikacji działania V(IV), wykazującego kilka genotoksycznych efektów w doświadczeniach *in vitro*, w przeciwieństwie do działania *in vivo*, ocenionego w badaniach tego samego szczepu myszy, tj. samców CD-1, którym dodawano w wodzie do picia 2–1000 mg/l siarczan wanadyli w ciągu 5 tygodni. Badano głównie retikulocyty krwi i erytrocyty szpiku kostnego oraz po zabiciu zwierząt analizowano tkanki somatyczne i generatywne. W przypadku tej pochodnej wanadu nie stwierdzono jak poprzednio [31] podobnego do V(V) działania genotoksycznego ani w przypadku komórek szpiku, ani jąder. Zaobserwowano natomiast indukcję mikrojąder w retikulocytach.

Badania wykonane w pracowniach chińskich [12,50] podkreślają rolę wpływu pochodnych wanadu na cyklooksyzogenazę-2 (COX-2) i tą drogą pro- lub antyapoptyczne działanie, a zatem w tym drugim przypadku promują kancerogenezę. Tang i wsp. [50] w badaniach linii ludzkich komórek nabłonkowych oskrzeli (Beas-2B) wykazali antyapoptyczne działanie pięciotlenku wanadu, który działał przez aktywację

NFAT, czyli czynnika jądrowego aktywującego komórki T oraz cyklooksygenazę-2 (COX-2). Enzym ten katalizuje przekształcenie kwasu arachidonowego na prostaglandynę H_2 (PGH_2), która z kolei jest substratem dla całej kaskady syntezy prostaglandyn. W większości prawidłowych tkanek nie wykazano aktywności izoenzymu COX-2. Jego aktywność przejawia się w stanach niedokrwistości, kancerogenezie, np. guzach jelita, trzustki, płuc, głowy oraz innych procesach chorobowych. COX-2 odpowiada za powstawanie bardzo aktywnych biologicznie związków, występujących w różnych jednostkach chorobowych, między innymi w pierwotnym gruczolakoraku płuc u ludzi. Autorzy ci wykazali, że pięciotlenek wanadu indukuje aktywność COX-2 w ludzkich komórkach nabłonkowych oskrzeli w sposób zależny od czasu i dawki. Maksymalny efekt proporcjonalny w zakresie stężeń do $400 \mu\text{M}$ wanadu uzyskali po 24 godz. Na podstawie wyników własnych oraz innych badaczy, Tang i wsp. [50] podkreślają, że efekt działania wanadu przez indukcję COX-2 zależy od typu komórek, a więc może wykazywać anty- lub proapoptotyczne działanie.

Chien i wsp. [12] podkreślają rolę wanadu w syntezie cytokin (IL-1, TNF- α) czy PGE_2 i sugerują, że przekazywanie sygnału przez receptor EGF, p38 i MAPK może być istotne dla indukcji COX-2 w ludzkiej linii komórek nowotworowych płuc (A549). Autorzy ci, używając swoistych inhibitorów udowadniają istnienie dwóch dróg działania Na_3VO_4 : jedna prowadzi do aktywacji COX-2 przez receptor epidermalnego czynnika wzrostu (EGFR) i białka p38, druga zaś przez aktywację kinaz różnych od MAPK do ekspresji ERKs, czyli kinaz regulowanych czynnikami pozakomórkowymi. Pierwsza droga przeważa w działaniu wanadanu na linię A549.

Suzuki i wsp. [49] badając tą samą linię komórkową, stwierdzili po ekspozycji na NaVO_3 , wzrost fosforylacji Ser15 białka p53 oraz wzrost jego ilości, w sposób zależny od czasu (8–48 godz.) oraz dawki (10–200 μM). Podobny efekt obserwowano po działaniu NH_4VO_3 lub Na_3VO_4 . Inne reszty serynowe białka p53 w pozycjach 6, 9, 20, 37, 46 i 392 ulegały tylko nieznacznej fosforylacji lub nie wykazano jej wcale, co zdaniem autorów świadczy o unikatowej roli reszty seryny w pozycji 15 w nagromadzeniu tego białka w komórkach linii A549.

Taniguchi i wsp. [51] stwierdzili aktywację przez ortowanadan również cytozolowej fosfolipazy $A_{2\alpha}$ w linii L929 fibroblastów mysich. Prowadzi to do uwalniania arachidonianu z fosfolipidów i szlaku aktywacji ERKs przez Src i kinazy białkowe C należące do rodziny kinaz Ser/Thr. Podobny efekt uwalniania przez Na_3VO_4 arachidonianu i stymulacji syntezy prostaglandyn stwierdził poprzednio ten sam zespół w szczurzych liniach neuronów PC12 i GH3 oraz inni autorzy w szczurzych komórkach tarczycy FRTL-5 i mysich makrofagach RAW.

2.2. Działanie przeciwnowotworowe wanadu

Wiele pochodnych wanadu zostało przebadane jako potencjalne związki mogące oddziaływać na prawidłowe komórki zarówno Pro- i Eukaryota, jak i nowotworowe komórki zwierzęce i ludzkie [16,17,29,30,39,46,55]. Proponowane mechanizmy oddziaływania różnych związków wanadu na te komórki nowotworowe przedstawiono w dalszej części artykułu.

2.2.1. Działanie związków wanadu w modelach zwierzęcych

Antyproliferacyjne działanie różnych związków wanadu na komórki nowotworowe zarówno zwierzęce, jak i ludzkie potwierdziły doświadczenia wykonane w wielu zespołach badawczych [4–11,16–19,20–25,27–29,34,36–42,45,46,52,55,56]. Chakraborty i wsp. [10], a właściwie zespół kierowany przez Chatterjee [5,6,8–10,25,41,45] cytują na podstawie literatury oraz badań własnych, efektywność działania wanadu wobec leukemii mysiej, guzów Ehrlicha, mysiego gruczolakoraku piersi, ludzkiej linii nowotworowych komórek epidermoidalnych HEP-2 oraz ludzkich, nowotworowych linii płuc, piersi i żołądkowo-jelitowych. W badaniach tych badaczy wykazano skuteczność związków wanadu w przeciwdziałaniu różnym nowotworom wywoływanym sztucznie u zwierząt. Dalsze badania w tym zespole w XXI wieku wykazały cytoprotekcyjne własności wanadu wobec nowotworów indukowanych przez inne kancerogeny, np. 7,12-dimetylobenzantracen (DMBA) czy dietylonitrozoaminę, i powstających w innych organach, np. w wątrobie [5,6,8–10,25,41,45]. Szczegóły podano w tabeli 1. Autorzy uważają, że przeciwnowotworowe działanie wanadu polega na indukcji i/lub regulacji aktywności enzymów wątrobowych, hamowaniu aktywności γ -glutamylotranspeptydazy i łożyskowej S-transferazy glutationu.

Ray i wsp. [39] podając szczurom V(V) w postaci wodnego roztworu metawanadanu amonu, w stężeniu 0,5 ppm (ang. *parts per milion* – ilość cząsteczek danego związku lub pierwiastka na milion cząsteczek), uzyskali istotne statystycznie zmniejszenie ilości powstałych skupisk komórek nowotworowych, niższą częstość powstawania przerzutów oraz mniejszą wielkość guzów w porównaniu z grupą szczurów, które nie otrzymywały związku wanadu [39]. Scrivens i wsp. [46] wykazali przeciwnowotworowe działanie bisperoksowanadu badając myszy z rozwiniętym modelem nowotworu raka sutka. Podobne antynowotworowe działanie na wczesny etap rozwoju raka sutka wykazano u szczurów szczepu Sprague-Dawley, które traktowano 7,12-dimetylobenz- α -antracenenem w celu wywołania nowotworu. Monowanadanu amonu, powodował istotne statystycznie zmniejszenie ilości powstałych guzów oraz redukcję ich wielkości. Badany związek powodował fragmentację DNA komórek nowotworowych w guzie, co prowadziło do zwiększenia częstości występowania procesu programowanej śmierci komórki, czyli apoptozy [42]. Wykazano, że siarczan wanadyłu wykazuje antynowotworową aktywność wobec leukemii mysiej L-1210, działa antyneoplastycznie w guzach wątroby szczura, guzach Ehrlicha i gruczolakoraku mysiego TA3Ha [36,45]. Działanie przeciwnowo-tworowe wanadu zostało wykazane w modelu szczurzego guza jelita grubego i okrężnicy [45]. Podawanie szczurom związku wanadu w stężeniu 4,27 μ M było statystycznie skuteczne w zahamowaniu rozwoju guza wywołanego podaniem 1,2-dimetylohydrazyny (DMH), związku powodującego tworzenie w reakcji z guaniną O-6-metyloguaniny, odpowiedzialnej za efekt mutagenny w komórkach szczurzego jelita grubego. Suplementacja szczurów wanadem powodowała zmniejszenie ilości tej pochodnej guaniny. Autorzy sugerują, że zmniejszenie powstałych ilości mutacji w komórkach, może dać korzystny efekt w postaci zdolności komórek do wejścia na

TABELA 1 Przykłady działania metawanadanu amonu na niektóre nowotwory indukowane u szczurów lub na ludzką linię komórek nowotworowych MCF7

Związek wanadu	Kancerogen/dawka	Rodzaj nowotworu	Uwagi	Literatura
Metawanadan amonu NH_4VO_3	7,12-dimetylobenzo-antracen [DMBA] / 0,5 mg/100 g masy ciała	rak piersi u szczurów	Samce szczurów Sprague-Dawley. Nowotwór indukowany jednorazową iniekcją kancerogenu do żyły doogonowej. Monowanadan amonu w stęż. 4,27 $\mu\text{mol/L}$ podany jako płyn do picia. Wanał wpływa na preneoplastyczne stadium komórek i programowaną śmierć komórek (apoptozę) przez regulację białka p53 i/lub hamowanie fosfatazy tyrozynowej	41
Metawanadan amonu NH_4VO_3	1,2-dimetylohydroazyna [1,2-DMH] / 20 mg/kg masy ciała	rak jelita u szczurów	1,2-DMH działa przez generację wolnych rodników i obniża aktywność transferazy glutationu oraz cytochromu P-450. Wanał w nietoksycznej dawce 4,27 $\mu\text{mol/L}$, chroni przed uszkodzeniami, działając antykancerogennie. Dokładny mechanizm działania wymaga dalszych badań	25
Metawanadan amonu NH_4VO_3	2-acetylaminofluoren [2-AAF] / 0,05% pokarmu	nowotwór wątroby szczurów	Wanał w stężeniu 4,27 $\mu\text{mol/L}$ podawany w płynie do picia w różnicowany sposób w kilku grupach do 20 tygodni. Ogranicza proliferację komórek oraz redukuje aberracje chromosomowe powstające w wyniku działania kancerogenu	9
NH_4VO_3	dietylonitrozoamina [DEN] / 200 mg/kg masy ciała	nowotwór wątroby szczurów	Samce Sprague-Dawley z indukowaną pojedynczym, dootrzewnowym zastrzykiem DEN powoduje modyfikację zasad DNA, pęknięcie nici i jest dobrym modelem badań stanów przednowotworowych oraz mechanizmów wzrostu, różnicowania i śmierci komórek. Autorzy wykazali w DNA zmodyfikowaną zasadę, tj. 8-hydrokso-2-dezoksyguanidynę (8-OHG), która zakłóca mechanizm naprawy DNA i prowadzi do uszkodzeń, np. pęknięć nici DNA. Wanał redukuje powstawanie tej nieprawidłowej pochodnej. Autorzy stwierdzają efektywność działania wanału również wobec leukemii mysiej, guzów Ehrlicha, mysiej adenokarcynomy piersi, Hep-2 ludzkiej linii nowotworowych komórek epidermoidalnych oraz ludzkich nowotworowych linii płuc, piersi i żołądkowo-jelitowych	6,8,10
Metawanadan amonu NH_4VO_3	1,2-dimetylohydroazyna [1,2-DMH] / 20 mg/kg masy ciała	nowotwór jelita szczurów	Samce Sprague-Dawley z indukowaną dootrzewnowymi zastrzykami 1,2-DMH przez 16 tygodni kancerogenezą jelit. Powstająca O ⁶ -metylguanina (O ⁶ -MeG) jest głównym czynnikiem prokancerogennym i mutagennym. W tkankach nowotworowych inaktywacja białka p53 oraz indukowana syntaza tlenu azotu (iNOS) są jednym z głównych czynników antyapoptotycznych, promujących rozwój guzów jelita. Płyn do picia zawierający 4,27 $\mu\text{mol/L}$ NH_4VO_3 powoduje hamowanie tego procesu w 70%, zmniejsza występowanie guzów i redukuje ich powielanie, bez widocznych efektów toksycznych. Działanie wanału polega na ograniczeniu tworzenia (O ⁶ -MeG) i regulację aktywności iNOS, p53 i apoptozy	45
25–350 μM NH_4VO_3 przez 48 godz	–	MCF7 linia nowotworu piersi u ludzi	Podanie NH_4VO_3 do medium komórek MCF7 powoduje apoptozę. Dawka nietoksyczna, wg autorów do 250 μM , odpowiada dziennej dawce 195 μg u ludzi. Reaktywne formy tlenu (ROS) generowane przez wanał aktywują białko p53 i uszkadzają mitochondria, co prowadzi do apoptozy. METVAN [bis (4,7-dimetyl-1,10-fenantrolino)sulfatooksowanad(IV)] indukuje apoptozę w komórkach leukemicznych pacjentów. Apoptozę wzmacnia dodatkowo hamowanie komórkowej kinazy tyrozynowej	40

drogę apoptozy, co w efekcie nie doprowadzało do rozwoju nowego guza [45]. Mechanizm działania wanadu nie jest do końca poznany, jednak wykazano, że związek ten powoduje wzrost tak zwanego indeksu apoptotycznego w komórkach nowotworowych (tj. odsetka komórek, które weszły na drogę apoptozy). Ponadto wykazano, że badana pochodna wanadu może w jakiś sposób przyczyniać się do zwiększenia ekspresji białka p53, które jest odpowiedzialne za kontrolę spójności DNA w komórkach, a w razie pękniętych nici lub zaistniałych mutacji w DNA, białko to jest skutecznym induktorem komórkowej apoptozy. Innym działaniem ochronnym wanadu było zmniejszenie ekspresji syntazy tlenu azotu (iNOS), co przyczynia się do zmniejszenia uszkodzeń genotoksycznych i kancerogenezy mediowanej przez tlenek azotu oraz pochodne w postaci wytworzonych wolnych rodników [45].

W innych badaniach [5,7] wykazano, że podawanie metawanadanu amoniaku szczurom Sprague-Dawley z rozwiniętym sztucznie (po chronicznym podawaniu 2-acetyloaminofluoru) nowotworem wątroby, powodowało istotne statystycznie zmniejszenie ilości guzów i ich wielkości. Dodawanie do pokarmu tej pochodnej wanadu, skutkowało zmniejszeniem wielkości i wagi wątroby oraz powodowało przywrócenie jej normalnego funkcjonowania. Funkcje wątroby były monitorowane przez oznaczanie aktywności enzymów: wątrobowej transferazy difosforan urydyny:glukuronozyl oraz dehydrogenazy glukozowej. Stosowanie wanadu zmniejszało ponadto uszkodzenia DNA, wykrywanego za pomocą metody elektroforezy komutowej w komórkach szczurzej wątroby potencjalnie narażonych na transformację nowotworową [7].

Obecnie próbuje się chemicznie syntetyzować pochodne wanadu z innymi związkami o działaniu przeciwnowotworowym i bada się takie kompleksy zarówno na modelach zwierzęcych, jak i ludzkich. Przebadano zsyntetyzowany kompleks wanadu (III) z kurkumina (flawonoidem znanym z antynowotworowych właściwości). Obserwowano antyproliferacyjne właściwości kompleksu na komórki mysiej białaczki. Związek kompleksowy był ponad dwukrotnie bardziej skuteczny w oddziaływaniu na komórki nowotworowe niż sama kurkumina [52]. W modelowych układach zwierzęcych próbuje się także stosować wanad i jego pochodne jako element suplementacyjny w połączeniu z innymi związkami, bez tworzenia sztucznych, chimerycznych kompleksów. W badaniach Chattopadhyay i wsp. [11] wykazano, że wzbogacenie wanadem oraz beta karotenem pokarmu dla szczurów ze sztucznie wywołanym rakiem wątroby jest bardziej skuteczne niż każdy ze związków podawanych osobno, w zapobieganiu powstawania nowych ognisk nowotworów oraz zmniejszeniu wielkości powstałych guzów.

Badania przeprowadzone w naszym zespole [15,29] wykazały antyproliferacyjny charakter soli wanadu VOSO_4 [V(IV)], Na_3VO_4 oraz NaVO_3 [V(V) w dwu ostatnich związkach], w stężeniach 0,5–20-mikromolowych wobec komórek szczurzej hepatomy (H35-19). Najbardziej skuteczny, ale jednocześnie najbardziej toksyczny, okazał się Na_3VO_4 , podczas gdy VOSO_4 był najmniej toksyczny. Porównanie działania wyżej wymienionych związków pozwoliło stwierdzić, że ortowanadan sodu wykazuje zależne od stężenia działanie na komórki nowotworowe. W niskim stężeniu ($<2,5 \mu\text{M}$) sole wanadu nie powodują uszkodzeń komórek, natomiast w wyższych

stężeniach ($>2,5 \mu\text{M}$) komórki i organelle komórkowe zostają uszkodzone. Streptozotocyna, związek stosowany powszechnie do wywoływania cukrzycy modelowej u zwierząt działa w zupełnie odmienny od pochodnych wanadu sposób [15], a zatem efekty uzyskiwane przez nas w doświadczeniach [29] są charakterystyczne i swoiste dla użytych soli wanadu.

2.2.2. Mechanizmy działania związków wanadu na hodowle ludzkich komórek nowotworowych

Pochodne wanadu są intensywnie badane pod kątem przydatności ich zastosowania w przyszłości w terapii antynowotworowej u ludzi. Działanie wanadu na ludzkie komórki nowotworowe w hodowli nie zostało jednak dotychczas w pełni wyjaśnione. Uważa się, że związki wanadu po wprowadzeniu do komórek oddziałują na DNA jądrowe w sposób podobny do cis-platyny, to znaczy wywołując wiązania krzyżowe pomiędzy niemi DNA utrudniają lub nawet uniemożliwiają replikację DNA, co kieruje komórki na drogę apoptozy. Transport wanadu i jego pochodnych do komórek również nie jest do końca poznany. Jedną z teorii mówi o potencjalnym wiązaniu pochodnych wanadu do transferyny ludzkiego osocza, tworząc kompleks przejściowy, co ułatwia transport cząsteczek związanych z białkiem do wnętrza komórki [17]. Pochodna wanadu tzw. Metvan [(4,7-dimethyl-1,10-phenanthroline) sulfatooksowanadium(IV)], ma zdolność do hamowania wielu rodzajów nowotworów. Wykazano, że w stężeniu $>1 \mu\text{M}$ Metvan jest skuteczny w hamowaniu adhezji i proliferacji komórek nowotworowych między innymi raka piersi, komórek białaczkowych, białaczek mielocytarnych. W doświadczeniach na zwierzętach nie wykazano dużej cytotoksyczności związku nawet w stężeniach 100 mg/kg masy ciała [16]. Badania komórek leukemicznych K562 wykazały różny sposób działania kompleksów wanadu [V(IV)] oraz [V(V)]. Stężenie związku powodujące apoptozę 50% komórek (IC 50) wahało się od 3,5 mikromoli dla dekwawanadanu, aż do 150 mikromoli dla pochodnej VO(OH₂)(HHida)Ch₃OH. Autorzy sugerują, że różne związki wanadu mogą oddziaływać w ten sam sposób: mianowicie utrudniać wzajemne oddziaływanie DNA i czynników transkrypcyjnych [30]. Różnica w działaniu polega na interakcji z różnymi czynnikami transkrypcyjnymi (na przykład NF- κ B lub GATA-1). Wydaje się, że jony wanadu na +5 stopniu utlenienia mogą być odpowiedzialne za oddziaływanie z poszczególnymi niemi DNA, natomiast jony związków kompleksowych wanadu na +4 stopniu utlenienia odpowiadają za pośredniczenie i/lub utrudnianie połączenia czynników transkrypcyjnych z DNA [30].

Siarczan wanadylu oraz inne niskocząsteczkowe związki wanadu, np. pięciotlenek wanadu (V₂O₅), wykazują działanie antyproliferacyjne na komórki nowotworowe [23,24,55]. Badania wykonane w naszym zespole [23] wykazały zdolność siarczanu wanadylu (VOSO₄) do oddziaływania na zdolność przeżywania i proliferacji komórek linii nowotworowej A549 (linia modelowa ludzkiego niedrobnokomórkowego nowotworu płuc) oraz linii nowotworowej DU145 (linia komórkowa służąca jako model raka prostaty). Użycie stosunkowo prostych metod, takich jak: barwienie przyżyciowe komórek przy użyciu MTT (ang. *bromide 3 (4,5 dimethyltioazo 2) 2,5 diphenyltetrazole*), fioletu krystalicznego czy barwnika Hoechst 33258, pozwoliło

wykazać hamowanie wzrostu badanych komórek, lecz siarczan wanadylu może być także toksyczny dla linii komórkowych nienowotworowych. W doświadczeniu z użyciem linii BEAS 2B oraz PNT2 (nienowotworowe ludzkie linie komórkowe płuc oraz prostaty) wykazano, że siarczan wanadylu obniża proliferację prawidłowych komórek w organizmie człowieka. Badając ortowanadan sodu [V(V)], wykazaliśmy również [27] znamienne wyższy cytotatyczny oraz/lub cytotoksyczny efekt działania tej pochodnej wanadu na linie ludzkich komórek nowotworowych płuc (A549), nerek (HTB-44) i prostaty (DU145) niż w przypadku stosowania V(IV) w postaci VOSO_4 [23]. Sugeruje to istotny wpływ stopnia utlenienia pochodnej wanadu na efekt cytotatyczny, jednakże wnioski należy potwierdzić dalszymi badaniami.

Wspomniane wcześniej działanie cytotoksyczne związków wanadu na prawidłowe ludzkie komórki pozwala stwierdzić, iż zastosowanie wanadu i jego soli w leczeniu nowotworów wymaga dużej ostrożności ze względu na liczne skutki uboczne stosowania związku. Badania z użyciem metody elektroforezy kometowej udowodniły, że poziom uszkodzeń DNA jest podobny jak w komórkach zdrowych ludzkich limfocytów, natomiast komórki nowotworowe są bardziej wrażliwe niż prawidłowe na działanie związków wanadu [55]. Stwierdzono głównie uszkodzenia oksydacyjne pojedynczych i podwójnych przerw w ciągłości nici DNA. Wozniak i Błasiak [55] wykazali, że witaminy A, E oraz C mogą nasilać działanie genotoksyczne soli wanadu poprzez pośredniczenie w produkcji reaktywnych form tlenu. Także prostsze związki kompleksowe wanadu wykazują działanie antyproliferacyjne na komórki nowotworowe. W badaniach Raya i wsp. [39,40] komórki ludzkiego raka piersi zostały poddane działaniu monowanadanu amonu. Komórki te były wrażliwe na zależne od stężenia działanie związku wanadu, obserwowano efekt genotoksyczny, DNA ulegał chromosomalnej kondensacji, cykl życia komórek MCF-7 był zahamowany, w końcu wystąpiła apoptoza.

Odmienne mechanizm działania proponują Scrivens i wsp. [46] lub Fu i wsp. [21]. Polega on na oddziaływaniu związków wanadu na fosfatazy wewnątrzkomórkowe. Pierwszy z zespołów wykazał na liniach nowotworowych: głowy, szyi, płuc, okrężnicy, piersi, że bisoksowanadan skutecznie oddziałuje na fosfatazy białkowe, np. Cdc25A, onkoproteinę niezbędną do przekroczenia przez komórkę punktu kontrolnego G1-S. Białko to współpracuje z białkiem Ras i ich nadekspresja jest obserwowana w wielu odmianach nowotworów. Działanie bisoksowanadanu jest niezależne od poziomu białek p53 czy p21 w komórkach nowotworowych [46]. Związek wanadu oddziałuje z centrum aktywnym fosfatazy przyłączając się do niego, co prowadzi do zablokowania możliwości działania enzymu. Mechanizm zahamowania cyklu komórkowego został też stwierdzony w komórkach HepG2. Użyty w tych doświadczeniach bisacetyloacetonian wanadu powodował powstanie trwałego zahamowania cyklu w fazie G1. Poziom odpowiedzi komórkowej był zależny od stężenia i czasu inkubacji z komórkami [21]. W przypadku tego związku wanadu postuluje się udział w regulacji działania fosfataz (w niepoznany do końca sposób), gdyż odnotowano znaczne zmniejszenie fosforylacji białka Rb (retinoblastomy) oraz zmniejszenie ekspresji cyklin D1, E oraz A bez jednoczesnego wzrostu poziomu wolnych rodników [21]. VOSO_4 chroni przed guzami piersi indukowanymi przez N-metylo-N-nitrozomocznik. Związki wanadu hamują wzrost i tworzenie guzów jelita grubego i okrężnicy u ludzi, oraz hamują wzrost epidermalnych komórek rakowych [36].

Związki wanadu próbuje się także syntetycznie łączyć z innymi związkami o charakterze przeciwnowotworowym i przeciwutleniającym w celu zwiększenia możliwości i profilu działania takich kompleksów na komórki ludzkie i zwierzęce, a także zmniejszenia potencjalnego, cytotoksycznego działania wanadu. Takim przykładem jest połączenie VO(IV) oraz hesperydyny, flawonoidu o dużych zdolnościach do zmiatania wolnych rodników. Etcheverry i wsp. [18] wykazali, że taki kompleks ma większe zdolności do eliminowania z komórek wolnych rodników niż sam flawonoid. Kompleks ma zwiększone działanie odpowiadające funkcji dysmutazy ponadtlenkowej. Wykazano także, że kompleks wanad/hesperydyna w równie dobrym stopniu jak hesperydyna powoduje „zmiatanie” wolnych rodników w komórkach różnych typów. Działanie związku kompleksowego na komórki Caco-2, ludzkiej linii nowotworu jelita grubego, wykazało w porównaniu z samą hesperydyną, zwiększony efekt antyproliferacyjny oraz proapoptotyczny względem badanych komórek. Podobne działanie wykazuje kompleks na komórki szczurzej osteosarkomy UMR106. W niskich stężeniach ($< 5 \mu\text{M}$) stymulował proliferację osteoblastów, w wyższych stężeniach ($>20 \mu\text{M}$) kompleks VO(IV)/hesperydyna wykazywał działanie cytotoksyczne również wobec prawidłowych osteoblastów [18].

Innym przykładem połączenia wanadu ze związkiem o znanych właściwościach antynowotworowych jest kompleks VO(IV)/kwercetyna. W badaniach Ferrera i wsp. [19] testowano ten kompleks na linii komórek prawidłowych osteoblastów MC3T3E1 oraz linii komórek nowotworowych UMR106. W celach porównawczych badano także działanie samych VOCl₂ oraz kwercetyny na te same linie komórkowe. W badaniach wykazano, że kompleks powoduje bardziej wydajną niż sam VOCl₂, apoptozę komórek nowotworowych. Nie stwierdzono, żeby kompleks wanad/kwercetyna wykazywał w niskim zakresie stężeń jakiegokolwiek działania niepożądane w stosunku do prawidłowych osteoblastów. Poza działaniem antyproliferacyjnym kompleksu wanadu z kwercetyną na nowotworowe osteoblasty wykazano potencjalnie korzystne działanie na komórki zdrowe. Polegało ono na aktywacji (poprzez fosforylację) kinaz ERK regulowanych zewnątrzkomórkowo oraz zwiększeniu produkcji kolagenu typu I w badanych komórkach. Działanie takie może się wiązać z korzystnym zwiększeniem proliferacji komórek osteoblastycznych w organizmie człowieka.

Próbuje się także połączyć wanad z prostymi cukrami np. kompleks wanadu(IV) oraz dwucukru trehalozy. Barrio i wsp. [4] wykazali jego zdolności antyproliferacyjne wobec osteoblastycznej linii komórek nowotworowych UMR106. W stężeniu poniżej $5 \mu\text{M}$, pochodna ta zwiększała proliferację komórek nowotworowych, podczas gdy zastosowanie wyższych stężeń od 50 do $100 \mu\text{M}$, ujawniało wprost proporcjonalne do stężenia, antyproliferacyjne działanie badanego kompleksu. Na komórki prawidłowe, związek ten działał jak mitogen w zakresie stężeń 5 – $25 \mu\text{M}$. Stwierdzono także działanie stymulujące na fosforylację kinazy ERK w komórkach (zależne od stężenia i czasu działania związku) [4,34].

Osińska-Królicka i wsp. [38] wykazali, że wanad na III stopniu utlenienia może tworzyć trwałe kompleksy z L-cysteiną w środowisku wodnym. Taki kompleks okazał się skutecznym w hamowaniu proliferacji komórek hepatomy Morrisa5123.

Prowadzone są też próby zastosowania związków, w których oprócz wanadu znajdują się też inne rzadkie pierwiastki. W badaniach Younga i Wanga [56] zastosowano związek wanadu z selenem w postaci $\text{Na}_5\text{SeV}_5\text{O}_{18}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ do badań nad tempem proliferacji komórek linii K562 ludzkiej białaczki. Związek ten obniża tempo proliferacji badanych komórek, a efekt zależy od jego stężenia i czasu stosowania. Ponadto wykazano antyproliferacyjne działanie tej pochodnej także w liniach zwierzęcych: mysiej sarkomy S180 oraz hepatomy H22. Mechanizm działania związku ma polegać na wielotorowym działaniu w komórkach linii białaczkowej, wydajnym hamowaniu cyklu życiowego komórek w fazie S oraz G2/M, co uniemożliwia ich dalszą proliferację. Mechanizm tego procesu zależy od akumulacji jonów Ca oraz Mg w komórce, zwiększenia ilości występujących w komórce wolnych rodników, obniżenia pH w błonach mitochondrialnych oraz zmniejszenia potencjału tych błon [56].

3. ZAKOŃCZENIE

Nieorganiczne i organiczne pochodne wanadu są intensywnie badane, gdyż jako substancje o działaniu antyproliferacyjnym i hamującym wzrost ludzkich komórek nowotworowych budzą nadzieję na zastosowanie ich w przyszłości w leczeniu pewnych typów nowotworów u ludzi. Ze względu na różne sposoby działania poszczególnych pochodnych wanadu na różnych stopniach utlenienia są tworzone zwierzęce i komórkowe modele doświadczalne w celu precyzyjnego wyjaśnienia działania tych związków w komórkach prawidłowych i nowotworowych. Z dotychczasowych doświadczeń wiadomo, że wanad może wykazywać także działanie genotoksyczne, a nawet mutagenne w stosunku do komórek prawidłowych zarówno zwierzęcych, jak i ludzkich [20,22,37,53]. Nie jest do końca wyjaśniony mechanizm działania pochodnych wanadu, promujących proces nowotworzenia. Wiadomo jednak, że często taki efekt może pojawić się wraz ze wzrostem stężenia związków wanadu.

Również nie do końca jest wyjaśniony sposób działania wanadu i jego pochodnych na komórki nowotworowe. Wiadomo, że związki te mogą przyczyniać się do zmniejszenia tempa proliferacji, ilości i masy guzów sztucznie wywołanych w modelach zwierzęcych. W badanych liniach ludzkich komórek nowotworowych, wanad również zmniejszał aktywność proliferacyjną komórek. Różni autorzy proponują kilka możliwości wyjaśnienia mechanizmów takiego działania związków wanadu. W celu zmniejszenia potencjalnie występujących niepożądanych efektów wanadu próbuje się obecnie wiązać ten pierwiastek w nowo syntetyzowanych, najczęściej organicznych związkach kompleksowych, które są bardziej efektywne jako substancje o działaniu przeciwnowotworowym. Na podstawie wyników uzyskiwanych przez innych autorów oraz wstępnych doświadczeń własnych sądzimy, że efektywność działania wanadu na komórki zależy od: wybranego modelu badań (komórki prawidłowe, nowotworowe, guzy zwierząt różnych gatunków), od rodzaju nowotworu, ligandu wiążącego wanad (jon nieorganiczny lub kompleks organiczny), wartości-

wości wanadu w danym związku i stężenia pochodnej wanadu oraz czasu trwania doświadczenia. W określonych eksperymentem warunkach, najczęściej obserwuje się liniową zależność między stopniem zahamowania wzrostu komórek nowotworowych a użytymi stężeniami wanadu. Jednak należy zaznaczyć, że zawsze trzeba brać pod uwagę potencjalne skutki uboczne działania zastosowanych związków na prawidłowe komórki ludzkiego organizmu.

LITERATURA

- [1] AHUKLA R, BHONDE RR. Adipogenic action of vanadium: a new dimensions in treating diabetes. *Biomaterials* 2008; **21**: 205–210.
- [2] AURELIANO M, GANDARA RMC. Decavanadate effects in biological systems. *J Inorg Biochem* 2005; **99**: 979–985.
- [3] AVILA-COSTA MR, FLORES EM, COLIN-BARENQUE C, ORDONEZ JL, GUTIERREZ AL, NINO-CABRERA HG, MUSSALI-GALANTE P, FORTOUL TI. Nigrostriatal modifications after vanadium inhalation: an immunocytochemical and cytological approach. *Neurochemical Res* 2004; **29**: 1365–1369.
- [4] BARRIO DA, WILLIAMS PAM, CORTIZO AM, ETCHEVERRY SB. Synthesis of a new vanadyl(IV) complex with trehalose (TreVO): insulin-mimetic activities in osteoblast-like cells in culture. *J Biol Inorg Chem* 2003; **8**: 459–468.
- [5] CHAKRABORTY T, CHATTERJEE A, DHACHINAMOORTHY D, SRIVASTAWA S, PANAYAPPAN L, CHATTERJEE M. Vanadium limits the expression of proliferating cell nuclear antigen and inhibits early DNA damage during diethylnitrosamine-induced hepatocellular preneoplasia in rats. *Environ Mol Mutagen* 2006; **47**: 603–615.
- [6] CHAKRABORTY T, CHATTERJEE A, RANAA, DHACHINAMOORTHY D, KUMAR AP, CHATTERJEE M. Carcinogen-induced early molecular events and its implication in the initiation of chemical hepatocarcinogenesis in rats: Chemo-preventive role of vanadium on this process. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1772**: 48–59.
- [7] CHAKRABORTY T, CHATTERJEE A, RANAA, RANAB, PALANISAMY A, MADHAPPAN R, CHATTERJEE M. Suppression of early stages of neoplastic transformation in a two-stage chemical hepatocarcinogenesis model: supplementation of vanadium, a dietary micronutrient, limits cell proliferation and inhibits the formations of 8-hydroxy-2'-deoxyguanosines and DNA strand-breaks in the liver of sprague-dawley rats. *Nutr Cancer* 2007; **59**: 228–247.
- [8] CHAKRABORTY T, CHATTERJEE A, SARALAYA MG, CHATTERJEE M. Chemopreventive effect of vanadium in a rodent model of chemical hepatocarcinogenesis: reflections in oxidative DNA damage, energy-dispersive X-ray fluorescence profile and metallothionein expression. *J Biol Inorg Chem* 2006; **11**: 855–866.
- [9] CHAKRABORTY T, CHATTERJEE A, SARALAYA MG, DHACHINAMOORTHY D, CHATTERJEE M. Vanadium inhibits the development of 2-acetylaminofluorene-induced premalignant phenotype in a two-stage chemical rat hepatocarcinogenesis model. *Life Sci* 2006; **78**: 2839–2851.
- [10] CHAKRABORTY T, PANDEY N, CHATTERJEE A, GHOSH B, RANAB, CHATTERJEE M. Molecular basis of anticlastogenic potential of vanadium *in vivo* during the early stages of diethylnitrosamine-induced hepatocarcinogenesis in rats. *Mut Res* 2006; **609**: 117–128.
- [11] CHATTOPADHYAY MB, CB MK, KANNA PS, RAY RS, ROY S, CHATTERJEE M. Combined supplementation of vanadium and beta-carotene suppresses placental glutathione S-transferase-positive foci and enhances antioxidant functions during the inhibition of diethylnitrosamine-induced rat liver carcinogenesis. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; **19**: 683–693.
- [12] CHIEN P-S, MAK O-T, HUANG H-J. Induction of COX-2 protein expression by vanadate in A549 human lung carcinoma cell line through EGF receptor and p38 MAPK-mediated pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; **339**: 562–568.

- [13] CORTIZO AM, MOLINUEVO MS, BARRIO DA, BRUZZONE L. Osteogenic activity of vanadyl(IV)-ascorbate complex: evaluation of its mechanism of action. *Int J Biochem Cell Biol* 2006; **38**: 1171–1180.
- [14] CRANS DC, SMEE JJ, GAIDAMAUSKAS E, YANG L. The chemistry and biochemistry of vanadium and the biological activities exerted by vanadium compounds. *Chem Rev* 2004; **104**: 849–902.
- [15] DABROS W, KLEIN A, TATAR B, HOLKO P, KORDOWIAK AM. Does Streptozotocin [STZ] exert an rat hepatoma H35-19 cell line? *Pol J Pathol* 2007; **58**: 253–260.
- [16] D'CRUZ OJ, UCKUN FM. Metvan: a novel oxovanadium(IV) complex with broad spectrum anticancer activity. *Expert Opin Investig Drugs* 2002; **11**: 1829–1836.
- [17] DU H, XIANG J, ZHANG Y, TANG Y, XU G. Binding of V(IV) to human transferrin: potential relevance to anticancer activity of vanadocene dichloride. *J Inorg Biochem* 2008; **102**: 146–149.
- [18] ETCHEVERRY SB, FERRER EG, NASO L, RIVADENEIRA J, SALINAS V, WILLIAMS PAM. Antioxidant effects of the VO(IV) hesperidin complex and its role in cancer chemoprevention. *J Biol Inorg Chem* 2008; **13**: 435–447.
- [19] FERRER EG, SALINAS MV, CORREA MJ, NASO L, BARRIO DA, ETCHEVERRY SB, LEZAMA L, ROJO T, WILLIAMS PAM. Synthesis, characterization, antitumoral and osteogenic activities of quercetin vanadyl(IV) complexes. *J Biol Inorg Chem* 2006; **11**: 791–801.
- [20] FRITZ WA, LIN TM, PETERSON RE. The aryl hydrocarbon receptor (AhR) inhibits vanadate-induced vascular endothelial growth factor (VEGF) production in TRAMP prostates. *Carcinogenesis* 2008; **29**: 1077–1082.
- [21] FU Y, WANG Q, YANG XG, YANG XD, WANG K. Vanadyl bisacetylacetonate induced G1/S cell cycle arrest via high-intensity ERK phosphorylation in HepG2 cells. *J Biol Inorg Chem* 2008; **13**: 1001–1009.
- [22] GLAVIANO A, NAYAK V, CABUY E, BAIRD DM, YIN Z, NEWSON R, LADON D, RUBIO MA, SLLJEPCEVIC P, LYNF, MOTHERSILL C, CASE CP. Effects of hTERT on metal ion-induced genomic instability. *Oncogene* 2006; **25**: 3424–3435.
- [23] HOLKO P, LIGEZA J, KISIELEWSKA J, KORDOWIAK AM, KLEIN A. The effect of vanadyl sulphate (VOSO₄) on autocrine growth of human epithelial cancer cell lines. *Pol J Pathol* 2008; **59**: 3–8.
- [24] IVANKOVIĆ S, MUSIĆ M, GOTIĆ M, LJUBESIĆ N. Cytotoxicity of nanosize V₂O₅ particles to selected fibroblast and tumor cells. *Toxicol in vitro* 2006; **20**: 286–294.
- [25] KANNA PS, SARALAYA MG, SAMANTA K, CHATTERJEE M. Vanadium inhibits DNA-protein cross-links and ameliorates surface level changes of aberrant crypt foci during 1,2-dimethylhydrazine induced rat colon carcinogenesis. *Cell Biol Toxicol* 2005; **21**: 41–52.
- [26] KISS T, JAKUSH T, HOLLENDER D, DORNYEIA, ENYEDY EA, PESSOA JC, SAKURAI H, SANZ-MEDEL A. Biospecification of antidiabetic VO(IV) complexes. *Coord Chem Rev* 2008; **252**: 1153–1162.
- [27] KLEIN A, HOLKO P, LIGEZA J., KORDOWIAK AM. Sodium orthovanadate affects growth of some human epithelial cancer cells (A549, DU145, HTB44). *Folia Biol Kraków* 2008; **56**: 115–121.
- [28] KORDOWIAK AM, HOLKO P. Pochodne wanadu jako związki o istotnym znaczeniu biologicznym: Część I: Działanie przeciwcukrzycowe. *Post Biol Kom* 2009; **36,3**: 361–376.
- [29] KORDOWIAK AM, KLEIN A, GOC A, DABROS W. Comparison of the effect of VOSO₄, Na₃VO₄ and NaVO₃ on proliferation, viability and morphology of H35-19 rat hepatoma cell line. *Pol J Pathol* 2007; **58**: 51–57.
- [30] LAMPRONTI I, BIANCHI N, BORGATTI M, FABBRI E, VIZZIELLO L, KHAN MT, ATHER A, BREZENA D, TAHIR MM, GAMBARI R. Effects of vanadium complexes on cell growth of human leukemia cells and protein-DNA interactions. *Oncology Rep* 2005; **14**: 9–15.
- [31] LEOPARDI P, VILLANI P, CORDELLI E, SINISCALCHI E, VESCHETTI E, CREBELLI R. Assessment of the *in vivo* genotoxicity of vanadate: analysis of micronuclei and DNA damage induced in mice by oral exposure. *Toxicol Lett* 2005; **158**: 39–49.
- [32] LIN TS, CHANG CL, SHEN FM. Whole blood vanadium in Taiwanese. *College Students Bull Environ Contam Toxicol* 2004; **73**: 781–786.
- [33] MEHDI MZ, PANDEY SK, THEBERGE JF, SRIVASTAVA AK. Insulin signal mimicry as a mechanism for the insulin-like effects of vanadium. *Cell Biochem Biophys* 2006; **44**: 73–81.
- [34] MOLINUEVO MS, CORTIZO AM, ETCHEVERRY SB. Vanadium(IV) complexes inhibit adhesion, migration and colony formation of UMR106 osteosarcoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008; **61**: 767–773.

- [35] MOSKALYK RR, ALFANTAZI AM. Processing of vanadium: a review. *Minerals Eng* 2003; **16**: 793–805.
- [36] MUKHERJEE B, PATRA B, MAHAPATRA S, BANERJEE P, TIWARI A, CHATTERJEE M. Vanadium – an element of atypical biological significance. *Toxicol Letters* 2004; **150**: 135–143.
- [37] NOUTSOPOULOS D, MARKOPOULOS G, KOLIOU M, DOVAL, VARTHOLOMATOS G, KOLETTAS E, TZAVARAS T. Vanadium induces VL30 retrotransposition at an unusually high level: a possible carcinogenesis mechanism. *J Mol Biol* 2007; **374**: 80–90.
- [38] OSIŃSKA-KRÓLICKA I, PODSIADŁY H, BUKIETYŃSKA K, ZEMANEK-ZBOCH M, NOWAK D, SUCHOSZEK-LUKANIUK K, MALICKA-BŁASZKIEWICZ M. Vanadium(III) complexes with L-cysteine-stability, speciation and the effect on actin in hepatoma Morris 5123 cells. *J Inorg Biochem* 2004; **98**: 2087–2098.
- [39] RAY RS, GHOSH B, RANA A, CHATTERJEE M. Suppression of cell proliferation, induction of apoptosis and cell cycle arrest: chemopreventive activity of vanadium *in vivo* and *in vitro*. *Int J Cancer* 2007; **120**: 13–23.
- [40] RAY RS, RANA B, SWAMI B, VENU V, CHATTERJEE M. Vanadium mediated apoptosis and cell cycle arrest in MCF7 cell line. *Chem Biol Interact* 2006; **163**: 239–247.
- [41] RAY RS, ROY S, GHOSH S, KUMAR M, CHATTERJEE M. Suppression of cell proliferation, DNA protein cross-links and induction of apoptosis by vanadium in chemical rat mammary carcinogenesis. *Biochim Biophys Acta* 2004; **1675**: 165–173.
- [42] RAY RS, ROY S, SAMANTA S, MAITRA D, CHATTERJEE M. Protective role of vanadium on the early process of rat mammary carcinogenesis by influencing expression of metallothionein, GGT-positive foci and DNA fragmentation. *Cell Biochem Funct* 2005; **23**: 447–456.
- [43] RESS NB, CHOU BJ, RENNE RA, DILL JA, MILLER RA, ROYCROFT JR, HAILEY JR, HASEMAN JK, BUCHER JR. Carcinogenicity of inhaled vanadium pentoxide in F344/N rats and B6C3F1 mice. *Toxicol Sci* 2003; **74**: 287–296.
- [44] RODRIGUEZ-MERCADO JJ, ROLDAN-REYES E, ALTAMIRO-LOZANO M. Genotoxic effects of vanadium(IV) in human peripheral blood cells. *Toxicol Lett* 2003; **144**: 359–369.
- [45] SAMANTA S, SWAMY V, SURESH D, RAJKUMAR M, RANA R, RANA A, CHATTERJEE M. Protective effects of vanadium against DMH-induced genotoxicity and carcinogenesis in rat colon: removal of O⁶-methylguanine DNA adducts, p53 expression, inducible nitric oxide synthase downregulation and apoptotic induction. *Mutat Res* 2008; **650**: 123–131.
- [46] SCRIVENS PJ, ALAOUI-JAMALI MA, GIANNINI G, WANG T, LOIGNON M, BATIST G, SANDOR VA. Cdc25A-inhibitory properties and antineoplastic activity of bisperoxovanadium analogues. *Mol Cancer Ther* 2003; **2**: 1053–1059.
- [47] SHECHTER Y, GOLDWASER I, MIRONCHIK M, FRIDKIN M, GEFEL D. Historic perspective and recent developments on the insulin-like actions of vanadium; toward developing vanadium-based drugs for diabetes. *Coord Chem Rev* 2003; **237**: 3–11.
- [48] SHECHTER Y. Insulin-like effects of vanadium: mechanism of action, clinical and basic implications. *Lett Pept Sci* 1998; **5**: 319–322.
- [49] SUZUKI K, INAGEDA K, NISHITAI G, MATSUOKA M. Phosphorylation of p53 at serine 15 in A549 pulmonary epithelial cells exposed to vanadate: involvement of ATM pathway. *Toxicol Appl Pharmacol* 2007; **220**: 83–91.
- [50] TANG H, SUN Y, XIU Q, LU H, HAN H. Cyclooxygenase-2 induction requires activation of nuclear factor of activated T-cells in Beas-2B cells after vanadium exposure and plays an anti-apoptotic role. *Arch Biochem Biophys* 2007; **468**: 92–99.
- [51] TANIGUCHI T, SHIMIZU M, NAKAMURA H, HIRABAYASHI T, FUJINO H, SAITO T, MURAYAMA T. Vanadate-induced activation of cytosolic phospholipase A_{2c} in L929 cells: roles of tyrosine kinase, protein kinase C and extracellular signal-regulated kinase. *Biochem Pharmacol* 2007; **73**: 854–862.
- [52] THOMPSON KH, BÖHMERLE K, POLISHCHUK E, MARTINS C, TOLEIKIS P, TSE J, YUEN V, MCNEILL JH, ORVIG C. Complementary inhibition of synoviocyte, smooth muscle cell or mouse lymphoma cell proliferation by a vanadyl curcumin complex compared to curcumin alone. *J Inorg Biochem* 2004; **98**: 2063–2070.
- [53] VALKO M, RHODES CJ, MONCOL J, IZAKOVIC M, MAZUR M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact* 2006; **160**: 1–40.

- [54] VILLANI P, CORDELLI E, LEOPARDI P, SINISCALCHI E, VESCHETTI E, FRESEGNA AM, CREBELLINI R. Evaluation of genotoxicity of oral exposure to tetravalent vanadium *in vivo*. *Toxicol Lett* 2007; **170**: 11–18.
- [55] WOŹNIAK K, BŁASIAK J. Vanadyl sulfate can differentially damage DNA in human lymphocytes and HeLa cells. *Arch Toxicol* 2004; **78**: 7–15.
- [56] YANG J., WANG Z. The antitumor effects of selenium compound $\text{Na}_5\text{SeV}_5\text{O}_{18} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ in K562 cell. *Arch Pharm Res* 2006; **29**: 859–865.

Redaktor prowadzący – Janusz Kubrakiewicz

Otrzymano: 29.12. 2009 r.

Przyjęto: 15.05. 2009 r.

Prof. dr hab. Anna M. Kordowiak

Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii,

Zakład Biochemii Ogólnej, Uniwersytet Jagielloński,

30-387 Kraków ul. Gronostajowa 7,

e-mail: anna@kordowiak.pl