

УДК 616-066.6:577

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ В НЕОПЛАЗМЕ И АСЦИТИЧЕСКОЙ ЖИДКОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ РАКЕ ЯИЧНИКОВ¹

Т.П. Генинг, Д.Р. Арсланова, Т.В. Абакумова, И.И. Антонеева,
Е.Г. Сидоренко, С.О. Генинг

Ульяновский государственный университет

В опухолевых клетках и асцитической жидкости крыс на логарифмической и терминальной стадиях экспериментального рака яичников определяли уровень малонового диальдегида и окислительную модификацию белков. В опухолевых клетках установлено усиление перекисного окисления липидов и окислительной модификации белков в логарифмическую фазу роста.

Ключевые слова: рак яичников, опухолевые клетки, асцитическая жидкость, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков.

Введение. Состояние липидов и белков клеточной мембраны является определяющим для поддержания формы, функциональной активности и контактов с другими клетками. На сегодня в литературе нет единого мнения относительно активности перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах опухолевых клеток. По данным одних авторов [10; 7; 3], уровень ПОЛ снижен, антиокислительная активность и окисляемость липидов невысоки, что может объясняться повышением уровня ненасыщенных жирных кислот. Низкий уровень последних и повышенное содержание холестерина повышают ригидность, но не снижают уровня жизнедеятельности опухолевых клеток. В то же время в динамике опухолевой прогрессии могут возникать и отбираться варианты опухолевых клеток с высоким уровнем ПОЛ.

Согласно данным литературы окислительная модификация белков (ОМБ) на сегодня может рассматриваться как один из ранних индикаторов повреждения ткани при свободно-радикальной патологии [5]. Показано, что при действии активных форм кислорода (АФК) нарушается нативная конформация белков и образуются крупные белковые агрегаты (при действии гидроксильных радикалов) либо низко молекулярные-

фрагменты (при действии гидроксильных радикалов вкупе с супероксидными анионами). Предлагаются два механизма ОМБ: первый предполагает конъюгацию липидных пероксидов с аминокислотными остатками в белках [11], второй – окисление АФК с образованием карбонильных производных. Последние – это стабильные продукты, которые формируются при металл-катализируемом окислении белков.

Таким образом, на сегодня не существует однозначных представлений о роли механизмов свободно-радикальной патологии в динамике канцерогенеза.

Цель исследования. Оценка окислительной модификации белков и липидов в неоплазме и асцитической жидкости при экспериментальном раке яичников.

Материалы и методы. Для моделирования опухоли использовали инбредных крыс в возрасте 4 месяцев массой 120 г (n=12), которым внутрибрюшинно перевивали штамм ОЯ (асцитная опухоль яичника, банк опухолевых штаммов РОНЦ им. Блохина) в объеме 0,5 мл 9-дневного инокулята (асцитическая жидкость с опухолевыми клетками). Прогрессирование данного типа опухоли проходит в три этапа: логарифмическая (на 4-й день после перевивки), стационарная (9-й день) и терминальная (14-й день) фазы.

¹ Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

Интенсивность ПОЛ оценивали по уровню вторичного продукта – малонового диальдегида (МДА) в тесте с тиобарбитуровой кислотой [1]. ОМБ оценивали по уровню карбонильных производных белков, которые определяли по методу Е.Е. Дубининой [4]. Уровень МДА пересчитывался на 1 мг белка, который определяли по методу Брэдфорда [8]. При статистической обработке применя-

ли непараметрический критерий Манна-Уитни (Stata v.6.0).

Результаты и обсуждение. В результате проведенных исследований было установлено возрастание уровня карбонильных групп белков как в опухолевой ткани (ОК), так и в асцитической жидкости (АЖ) животных с экспериментальным раком яичников (РЯ) (рис. 1).

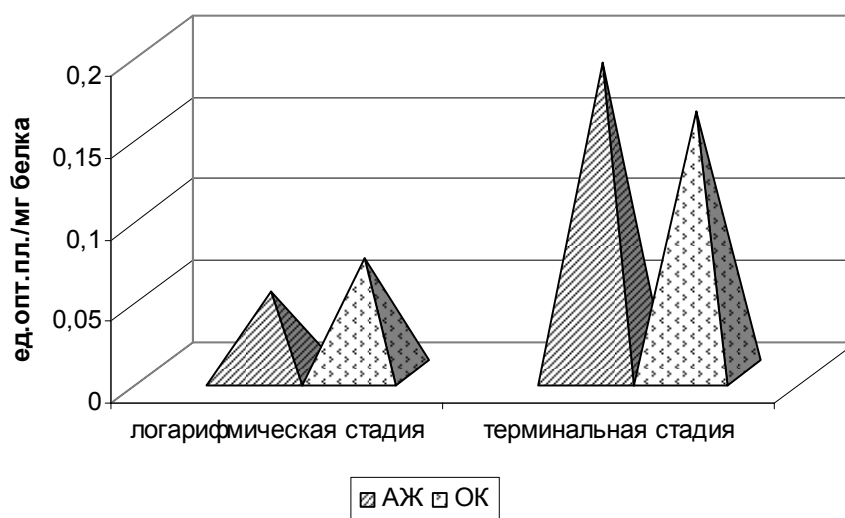


Рис. 1. Уровень карбонильных производных белков в лизате опухолевых клеток и асците в динамике канцерогенеза

В результате серии исследований, посвященных оценке окислительной модификации белков при различных патологиях, появился термин «карбониловый стресс» [16; 9], поскольку определение карбониловых производных белков в плазме, сыворотке, клетках крови [6] и тканях [14] свидетельствовало о повышении их содержания. Наиболее существенным фактом является инактивация ферментов в результате ОМБ [17]. Кроме этого, модификация белков делает их более чувствительными к протеолизу [2; 15;

13]. Т. Nystrom было высказано предположение о возможности развития карбонилового стресса и в отсутствие избыточной генерации АФК и снижение АОЗ. Этот путь связан с продукцией aberrantных белков, которые образуются, например, при стрессе, и карбонилирование необходимо для их деградации [12].

В результате проведенных исследований было установлено повышение уровня МДА в ОК и АЖ на терминальной стадии по сравнению с логарифмической (табл. 1).

Таблица 1

Уровень МДА в опухолевых клетках и асцитической жидкости асцитной опухоли яичников на различных стадиях канцерогенеза

Стадия/субстрат	ОК, мкмоль/мг белка	АЖ, мкмоль/л
Логарифмическая	10,25±0,51	4,25±0,31
Терминальная	18,62±1,45*	7,43±0,57*

Примечание. * – данные, значимо отличающиеся от таковых на предыдущей стадии.

Основными индукторами окислительной модификации белков являются АФК и продукты ПОЛ при снижении антиоксидантной защиты. АФК нарушают нативную конформацию ряда доменов белков. При этом увеличивается число гидрофобных остатков на поверхности глобул, что приводит к образованию крупных белковых конгломератов. Радикалы липидов также вызывают фрагментацию белковых молекул.

Таким образом, полученные данные позволяют предполагать возникновение оксидативного и карбонильного стресса в опухолевых клетках в логарифмическую фазу роста асцитной опухоли яичников.

Заключение. В опухолевых клетках асцитной опухоли яичников в логарифмическую фазу роста усиливаются перекисное окисление липидов и окислительная модификация белков.

Работа выполнена при поддержке ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России».

1. Андреева, Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лабораторное дело. – 1988. – №11. – С. 41–43.

2. Белоногов, Р.Н. Окислительная модификация белков и липидов крови больных раком легкого / Р.Н. Белоногов, Н.М. Титова, Ю.А. Дыхно // Сибирский онкологический журн. – 2009. – №4 (34). – С. 48–53.

3. Дейчман, Г.И. Естественный отбор и ранние изменения фенотипа опухолевых клеток *in vivo*: приобретение новых механизмов защиты / Г.И. Дейчман // Биохимия. – 2000. – Т. 65, вып. 1. – С. 92–111.

4. Дубинина, Е.Е. Окислительная модификация белков / Е.Е. Дубинина, И.В. Шугалей // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 11, вып. 1. – С. 71–81.

5. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина и др. // Вопр. медицинской химии. – 2010. – №4. – С. 389–409.

6. Жаворонок, Т.В. Участие тиосульфидной системы в регуляции окислительной модификации белков в нейтрофилах при окислительном стрессе / Т.В. Жаворонок, Е.А. Степовая, Г.В. Пёткина // Фундаментальные исследования. – 2007. – №12. – С. 383.

7. Франциянц, Е.М. Перекисное окисление липидов в патогенезе опухолевой болезни : автореф. дис. ... д-ра биол. наук / Е.М. Франциянц. – Ростов н/Д, 1997. – 48 с.

8. Bradford, M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

9. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression / I. Dalle-Donne et al. // Cell Mol. Med. – 2006. – Vol. 10 (2). – P. 389–406.

10. Galeotti, T. Oxy-radical sources, scavenger systems and membrane damage in cancer cells / T. Galeotti, S. Borello, L. Masotti // Oxygen Radicals: Systemic Events and Disease Processes. Basel: Karger, 1990. – P.129–148.

11. Grimsrud, P.A. Oxidative stress and covalent modification of protein with bioactive aldehydes / P.A. Grimsrud, H. Xie, T.J. Griffin // J. Biol. Chem. – 2008. – Vol. 283 (32). – P. 21837–21841.

12. Nystrom, T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence / T. Nystrom // The EMBO Journal. – 2005. – Vol. 24. – P. 1311–1317.

13. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression / I. Dalle-Donne et al. // Cell Mol. Med. – 2006. – Vol. 10 (2). – P. 389–406.

14. Proteomic identification of oxidatively modified proteins in Alzheimer's disease brain. Part I: creatine kinase BB, glutamine synthase, and ubiquitin carboxy-terminal hydrolase L-1 / A. Gastegna et al. // Free Radic. Biol. Med. – 2002. – Vol. 33. – P. 562–571.

15. Shringarpure, R. Protein turnover by the proteasome in aging and disease / R. Shringarpure, K.J. Davies // Free Radic. Biol. Med. – 2002. – Vol. 32. – P. 1084–1089.

16. Ubiquitin conjugation is not required for the degradation of oxidized proteins by proteasome / R. Shringarpure et al. // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278. – P. 311–318.

17. Stadtman, E.R. Protein oxidation / E.R. Stadtman, R.L. Levine // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2000. – Vol. 899. – P. 191–208.

18. Walters, D.M. Oxidative stress and antioxidants in the pathogenesis of pulmonary fibrosis: a potential role for Nrf2 / D.M. Walters, H.Y. Cho, S.R. Kleeberger // Antioxidants & redox signaling. – 2008. – Vol. 10 (2). – P. 321–332.

OXIDATIVE MODIFICATION OF PROTEINS AND LIPIDS IN THE NEOPLASM AND THE ASCITIC LIQUID AT THE EXPERIMENTAL CANCER OF OVARIES

T.P. Gening, D.R. Arslanova, T.V. Abakumova, I.I. Antoneeva, E.G. Sidorenko, S.O. Gening

Ulyanovsk State University

In tumoral cells and ascitic liquids of rats at a logarithmic and terminal stage of an experimental cancer ovary defined level malonic dialdehyde and oxidative modification of proteins. Strengthening lipid peroxidations and oxidative modification of proteins in a logarithmic growth phase is established in tumoral cells.

Keywords: cancer ovary, tumor cells, ascitic liquid, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins.