

ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ: ПРОБЛЕМЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Л.Е. Муравлева¹, В.Б. Молотов-Лучанский¹, Д.А. Ключев¹,
Р.А. Бакенова², Б.Ж. Култанов¹, Н.А. Танкибаева¹,
В.В. Койков³, Г.А. Омарова¹

¹Государственный медицинский университет,
г. Караганда, Республика Казахстан

²Национальный научный медицинский центр,
г. Астана, Республика Казахстан

³Медицинский университет, г. Астана, Республика Казахстан
muravlev@inbox.ru, mythrandir79@mail.ru

Приведены современные представления о механизмах модификации белков и элиминации окисленных белков. Обсуждаются гипотезы о значении образования карбонильных производных белков, их роли для контроля фолдинга и регуляции.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, карбонильные производные белков.

PROTEIN OXIDATIVE MODIFICATION: PROBLEMS AND RESEARCH PROSPECTS

L.Ye. Muravleva¹, V.B. Molotov-Luchansky¹, D.A. Klyuyev¹,
R.A. Bakenova², B.Zh. Kultanov¹, N.A. Tankibayeva¹, V.V. Koikov³,
A. Omarova¹

¹State Medical University, Karaganda, Republic of Kazakhstan,

²National Scientific Medical Center, Astana, Republic of Kazakhstan

³Medical University, Astana, Republic of Kazakhstan

muravlev@inbox.ru, mythrandir79@mail.ru

Modern representations about the protein oxidative modification mechanism and the oxidised proteins elimination are resulted. Hypotheses about value of the protein carbonyl derivatives synthesis and their role for folding control and regulation are discussed.

Keywords: protein oxidative modification, protein carbonyl derivatives.

Исследования в области мембранологии и молекулярно-клеточных взаимодействий, проведенные в 80–90-х годах прошлого века и первом десятилетии нынешнего столетия, позволили определить базовые механизмы развития различных патологических состояний. Результаты этих исследований имели не только фундаментальное значение, но и получили широкий практический выход. Благодаря изучению особенностей динамики антиоксидантных си-

стем и процессов липопероксидации стало возможным применение в практической медицине новейших антиоксидантов и антигипоксантов, таких, как мексидол, эмоксипин, реамберин и т.п. В настоящее время они стали обязательным компонентом в лечении инсультов, повреждений глаза, острых и хронических поражений печени, поджелудочной железы и т.д.

Новым направлением стало исследование окислительной модификации белков

(ОМБ) при различных патологических состояниях [1–12]. Для определения продуктов ОМБ обычно используется метод, описанный Е.Е. Дубининой и соавт., [6] предусматривающий регистрацию 2,4-динитрофенилгидразонов основного и нейтрального характера в плазме (сыворотке) крови. Определяют динитрофенилгидразоны, образующиеся при спонтанной и/или металл-катализируемой ОМБ. В последнее время содержание окисленных белков стали определять в клетках крови [12] и в тканях [13].

В результате накопился большой фактический материал, демонстрирующий изменение катаболитов ОМБ при различных патологических состояниях, появился термин «карбониловый стресс». Для корректной интерпретации полученных результатов возник вопрос об индукторах, природе и механизмах окислительного повреждения белков, а также о физиологическом и патофизиологическом значении ОМБ.

В качестве основных индукторов ОМБ, в первую очередь, рассматриваются активные формы кислорода (АФК), увеличение свободного железа, продукты перекисного окисления липидов при снижении антиоксидантной защиты.

При действии АФК происходит нарушение нативной конформации белков с образованием крупных белковых агрегатов или фрагментация белковой молекулы. Гидроксильный радикал чаще всего вызывает агрегацию белков, а в комбинации с супероксиданионом — фрагментацию с образованием низкомолекулярных фрагментов. Радикалы липидов могут также вызывать фрагментацию белковых молекул. Механизм формирования агрегатов следующий: при действии оксидантов происходит нарушение нативной конформации ряда доменов белков. В результате увеличивается число гидрофобных остатков на поверхности глобул, что и обуславливает

формирование крупных белковых конгломератов [14].

В настоящее время предложены следующие механизмы ОМБ. Первый механизм ОМБ — конъюгация липидных пероксидов с аминокислотными остатками гистидина, цистеина и лизина в белках. Второй механизм — окисление при участии АФК с образованием карбонильных производных, а также дисульфидов Cys-S-S-Cys, цистеин-сульфеновой (SO), -сульфиновой (SO₂-) или -сульфоновой (SO₃-) кислот, сульфоксида метионина (MetSO). В последнее время к ОМБ предложено относить и гликирование и гликооксидацию лизиновых и аспарагиновых остатков [15, 16].

Карбониловые производные белков — это стабильные продукты, которые образуются при участии аминокислотных остатков пролина, аргинина, лизина, треонина с образованием аддуктов Михаэля. Также карбониловые производные белков могут образовываться при участии аминокислотных остатков лизина, цистеина и гистидина с продуктами перекисного окисления липидов. Причем карбонилирование аргинина и лизина сопровождается потерей одного или более атомов азота. Кроме этого, они могут образовываться в процессе гликирования/гликооксидации аминокислот лизина. По мнению ряда исследователей, карбониловые производные формируются при металл-катализируемом окислении белков [17].

Наиболее важным следствием ОМБ белков является инактивация ферментов. Например, альдегиды вызывают инактивацию мембранных транспортеров, таких, как Na⁺-K⁺-АТФазы, транспортеров глюкозы в головном мозге, что приводит к нейродегенеративным расстройствам. Другим примером является инактивация альдегидами шаперона Hsp90 и протеин-дисульфидизомеразы, осуществляющих контроль фолдинга. Альдегиды чаще всего взаимодействуют с остатками цистеина или гистидина киназ, принимающих уча-

стие в сигнальной трансдукции, что приводит к утрате их активности [18, 19].

В последнее время появились новые данные, демонстрирующие способность некоторых альдегидов активировать белки. Высказано мнение, что влияние некоторых альдегидов на процесс воспаления, индукцию апоптоза может быть детерминировано через сигнальные киназы по механизму loss- and gain-of-function modifications [20].

Модификация белков делает их более чувствительными к протеолизу. Удаление модифицированных белков идет двумя механизмами: с помощью протеасом и протеаз. Целевая деградация карбонилированных белков идет двумя вариантами. В первом варианте принимает участие 20 S убиквитин-независимая протеасома, которая разрушает белки с нарушенным фолдингом. Механизм распознавания таких белков связан со способностью протеасом определять участки глобул, на которых происходит экспозиция гидрофобных радикалов. Это путь деградации многих карбонилированных белков. Если в дело вступает 26 S протеасома, то модифицированные белки первоначально подвергаются убиквитинизации [21, 22, 23].

Увеличение персистенции карбонильных белков может быть результатом снижения активности клеточных протеазных систем. Показано, что снижение функции протеасом сопровождается накоплением поврежденных белков. Ингибирующий эффект на протеасомы доказан и для альдегидов. Было предположено, что снижение протеолиза вызвано последовательной аккумуляцией агрегатов белков (агрегасом), устойчивых к действию протеаз. Эти агрегасомы связываются с протеасомами и блокируют их. Агрегаты с высоким молекулярным весом также ингибируют и протеазы [24, 25, 26].

Сравнительно недавно высказано предположение, что развитие карбонильного стресса может происходить и в отсутствие избыточной

генерации АФК, снижения АОЗ и уменьшения протеазной активности. Причем этот путь карбонилирования строго связан с продукцией абберантных белков, образующихся при нарушении трансляции, дефиците шаперонов, действии стресс-факторов, например, температуры и денатурирующих агентов. Образование карбонильных производных абберантных белков с нарушенным фолдингом необходимо для их деградации. По этому сценарию карбонилирование можно рассматривать как один из способов контроля качества фолдинга белков [27].

Открытие роли карбонилирования как одного из способов контроля качества позволило с другой точки зрения взглянуть на ОМБ. Установлено, что активация ряда генов, содержащих антиоксидант-респонсивные элементы, регулируется по механизму карбонилирования. Например, Nrf2 (NF-E2-related factor 2) — основной транскрипционный фактор, вовлеченный в регуляцию генов, содержащих антиоксидант-респонсивные элементы, активируется в ответ на окислительный стресс. Предложен механизм этого процесса: Nrf2 находится в комплексе с Keap1 (Kelch-like ECH-associated protein 1); под действием альдегидов происходит диссоциация этого комплекса, Nrf2 транслоцируется в ядро и активирует экспрессию генов, содержащих антиоксидант-респонсивные элементы, что в результате повышает АОЗ [28].

На основе карбонилирования белков предложен новый механизм редокс-сигнальных событий в ответ лиганд-рецепторные взаимодействия с участием эндотелина -1 [29]. Эндотелин -1 выполняет разнообразные функции, стимулируя протеинкиназы, транскрипционные факторы и т.д. Эндотелин -1 также участвует в генерации АФК, которые, в свою очередь, способствуют пролиферации гладкомышечных клеток легочных сосудов в процессе формирования легочной гипертензии [30, 31]. Эндотелин -1, взаимодействуя с рецептором, способствует

карбонилированию белков через образование АФК. Медиаторами этого процесса являются пероксид и железо в реакции Фентона. Белки, которые подвергаются карбонилированию в ответ на эндотелин -1, уничтожаются протеасомами, например, аннексин -1. Аннексин выполняет функции промотора апоптоза и ингибитора клеточного роста. Удаление аннексина -1 является условием клеточного роста и выживания [32,33].

Естественно, возникает достаточно много вопросов, касающихся механизмов карбонилирования и возможной регуляции этого процесса. Так, остается неясным способ организации и регуляции процессов «направленного», или «целевого» карбонилирования определенных белков путем увеличения концентрации АФК или активных альдегидов, которые, как известно, не обладают избирательностью действия. Активно ведется поиск белков, наиболее подверженных ОМБ. Неясно, какой из путей целевой деградации белков преимущественно запускается с началом патологических изменений в организме и какой из них ответствен за прогрессирование хронических заболеваний. Ответы на эти вопросы расширят понимание механизмов развития наиболее распространенных болезней человека и позволят сформировать новые подходы к их лечению.

Список литературы

1. Dalle-Donne I., Aldini G., Carini M. et. al. // *Cell Mol Med.* — 2006. — 10(2): 389–406.
2. Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Дыхно Ю.А. и др. // *Сибирский онкологический журнал.* — 2009. — № 4(34) — С. 48–53.
3. Stadtman E.R., Levine R.L. *Ann N Y Acad Sci.* — 2000, 899: 191–208.
4. Berlett B.S., Stadtman E.R. // *J Biol Chem.* — 1997, 272:20313–20316.
5. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Мамаева Г.Г. Сахарный диабет: ангиопатии и окислительный стресс: пособие для врачей. — М., 2003. — 86 с.
6. Pantke U., Volk T., Schmutzler M., Kox W.J. et. al. // *Free Radic Biol Med.* — 1999, 27:1080–1086.
7. Дубинина Е.Е., Морозова М.Г., Леонова Н.В. и др. // *Вопросы медицинской химии* 2000. — Т. 46, №4. — С. 398 — 409.
8. Молотов-Лучанский В.Б., Кудрявцев С.С., Муравлева Л.Е., Газалиев А.М. // *Экспериментальная и клиническая фармакология*, 2005. — Т.68, № 5. — С. 47–50.
9. Молотов-Лучанский В.Б. Патогенетическая и клинико-биохимическая характеристика поражений почек при сахарном диабете: Автореф. дис. д.м.н. — Караганда, 2007. — 42 с.
10. Койков В.В. Состояние окислительной модификации белков и нуклеиновых кислот при злокачественных новообразованиях (на примере рака легкого): Автореф. дис. канд. мед. наук — Алматы, 2000. — 23 с.
11. Кулмагамбетов И.Р., Муравлева Л.Е., Койков В.В. и др. // *Биомедицинская химия*, — 2007. — Т. 53, Вып. 3. — С. 276–284.
12. Жаворонок Т.В., Степовая Е.А., Петина Г.В. и др. // *Фундаментальные исследования.* — 2007. — № 12. — С. 383.
13. Castegna A., Aksenov M., Aksenova M., Thongboonkerd V. et.al. // *Free Radic Biol Med.* — 2002, 33: 562–571.
14. Davies K.J., Delsignore M.E., // *J. Biol Chem.* — 1987, 262: 9908–9913.
15. Davies K.J., Delsignore M.E., Lin S.W. // *J Biol Chem.* — 1987, 262: 9902–9907.
16. Levine R.L. // *Free Radic Biol Med.* — 2002, 32: 790–796.
17. Grimsrud P. A., Xie H., Griffin T. J. Bernlohr D.A. // *The Journal of Biological Chemistry.* — 2008, 283: 21837–21841.
18. Carbone D. L., Doorn J. A., Kiebler Z., Ickes B. R., Petersen D. R. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* — 2005, 315: 8–15.
19. Carbone D. L., Doorn J. A., Kiebler Z., Petersen D. R. // *Chem. Res. Toxicol.* — 2005, 18: 1324–1331.

-
20. England K., Cotter C.T. // *Redox Report*. — 2005, 10: 237–245.
21. Friguet B., Bulteau A.L., Chondrogianni N., Conconi M., Petropoulos I. // *Ann NY Acad Sci* — 2000, 908: 143–154.
22. Shringarpure R., Grune T., Mehlhase J., Davies K.J. // *J. Biol Chem.* 2003, 278: 311–318.
23. Shringarpure R., Davies K.J. // *Free Radic Biol Med.* — 2002, 32: 1084–1089.
24. Dukan S., Farewell A., Ballesteros M., Taddei F., Radman M., Nyström T. // *Proc Natl Acad Sci USA*. — 2000, 97: 5746–5749.
25. Grune T., Jung T., Merker K., Davies K.J. // *Int J Biochem Cell Biol.* — 2004, 36: 2519–2530.
26. Grune T., Merker K., Sandig G., Davies K.J. // *Biochem Biophys Res Commun.* — 2003, 305: 709–718.
27. Nyström T. // *The EMBO Journal*. — 2005, 24: 1311 — 1317.
28. Walters D.M., Cho H.Y., Kleeberger S.R. // *Antioxidants & redox signaling*. — 2008, 10(2): 321–32.
29. Chi Ming Wong, Amrita K. Cheema, Lihua Zhang, Yuichiro J. Suzuki // *Circulation Research*. — 2008, 102: 310–318.
30. Wedgwood S., Dettman R.W., Black S.M. // *Am J Physiol*. — 2001, 281: L1058–L1067.
31. Debret R., El Btaouri H., Duca L. et. al // *FEBS Lett.* — 2003, 546: 195–202.
32. Alldridge L.C., Bryant C.E. // *Exp Cell Res.* — 2003, 290: 93–107.
33. Cattaruzza M., Hecker M. // *Circulation Research*. — 2008, 102:273 — 285.
-