

УДК 616-006.66: 616-08-039.75

**ОКИСЛИТЕЛЬНАЯ МОДИФИКАЦИЯ БЕЛКОВ
В ЭРИТРОЦИТАХ БОЛЬНЫХ РАКОМ ЯИЧНИКОВ
ПОСЛЕ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ ПО СХЕМЕ CAP**

¹Долгова Д.Р., ¹Генинг С.О., ¹Антонеева И.И., ¹Пирмамедова С.С., ¹Михеенко А.А.,
²Мясникова Д.Ф., ³Наковкина Е.С., ¹Насырова Е.Ю.

¹ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет, Ульяновск, e-mail: contact@ulsu.ru;

²ГУЗ ОКОД, Ульяновск, e-mail: guz_okod@mail.ru;

³ГУЗ УОКБ, Ульяновск, e-mail: ob.sovet.uokb@yandex.ru

В эритроцитах первичных больных раком яичников на III клинической стадии по FIGO, получающих полихимиотерапию по схеме CAP (цисплатин + доxorубин + циклофосамид), оценивали уровень окислительной модификации белков по уровню альдегидных и кетонных групп нейтрального ($\lambda=356$ нм и $\lambda=370$ нм) и основного ($\lambda=430$ нм и $\lambda=530$ нм) характера. Было установлено повышение всех исследованных продуктов окислительной модификации белков у пациентов при раке яичников по сравнению с практически здоровыми женщинами. Показано, что химиотерапия по схеме CAP индуцирует дальнейшее увеличение в эритроцитах уровня этих карбонильных производных, наиболее выраженное через 14 дней после первого курса химиотерапии. Наблюдаемые изменения редокс-статуса эритроцитов после полихимиотерапии позволяют предполагать возможность нарушения редокс-сигнализация в организме-опухоленосителе.

Ключевые слова: рак яичников, полихимиотерапия, окислительная модификация белков.

**OXIDIZING MODIFICATION OF PROTEINS IN ERYTHROCYTES
OF SUFFERING FROM CANCER OVARIAN AFTER
A POLYCHEMOTHERAPY ACCORDING TO CAP SCHEME**

¹Dolgova D.R., ¹Gening S.O., ¹Antoneeva I.I., ¹Pirmamedova S.S., ¹Mikheenko A.A.,
²Myasnikova D.F., ²Nakovkina D.F., ¹Nasyrova E.Y.

¹Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, e-mail: contact@ulsu.ru;

²Regional clinical Oncology dispensary, Ulyanovsk, e-mail: guz_okod@mail.ru;

³Ulyanovsk regional clinical hospital, Ulyanovsk, e-mail: ob.sovet.uokb@yandex.ru

In erythrocytes of primary patients with cancer ovarian at the III clinical stage on FIGO, receiving polychemotherapy according to CAP scheme (cisplatin + doxorubicin + cyclophosphamid), estimated level of oxidizing modification of proteins on level the aldehyde and ketonic groups neutral ($\lambda = 356$ nanometers and $\lambda = 370$ nanometers) and the basic ($\lambda = 430$ nanometers and $\lambda = 530$ nanometers) character. Increase of all studied products of oxidizing modification of proteins at patients was established at a cancer ovarian in comparison with almost healthy women. It is shown that the chemotherapy according to the scheme of CAP induces further increase in erythrocytes of level of these carbonyl derivatives, the most expressed in 14 days after the first course of chemotherapy. Observed changes of the redox-status of erythrocytes after polychemotherapy allow to assume possibility of violation the redox-alarm system in an organism with tumor.

Keywords: cancer ovarian, polychemotherapy, oxidizing modification of proteins

Установлено, что в процессе злокачественного роста происходит изменение параметров редоксзависимых процессов в организме-опухоленосителе [12,3]. Образование активных форм кислорода (АФК) в тканях в норме определяет нормально протекающие метаболические процессы, выполняя роль сигнальных молекул [2,7]. При усилении генерации АФК без адекватного изменения емкости антиоксидантной защиты возникает оксидативный стресс, который выступает как одно из патогенетических звеньев онкозаболевания [4,8]. Пролиферативная способность опухолевых клеток определяется работой систем вне- и внутриклеточной сигнализации. При пониженной чувствительности к антипролиферативным сигналам трансформированные клетки (они менее чувствительны к крост-ингибирующим

цитокинам) внешние сигналы дифференцировки и апоптоза могут воспринимать как митогенные сигналы.

В последнее время значимую роль в канцерогенезе отводят изменениям метаболизма кислорода [13], что является развитием концепции О. Варбурга (1956). Было показано, что переключение метаболизма с окислительного фосфорилирования на гликолиз связано с усилением образования АФК [9]. При этом усиливается перенос электронов через пентозофосфатный путь на НАДФН и gSH. В итоге в неоплазме изменяется редокс-гомеостаз [10]. Существует точка зрения, согласно которой высокая пролиферативная активность, лекарственная резистентность, снижение апоптоза, иммортализация опухолевых клеток могут быть опосредованы изменением метаболиз-

ма [5]. Ключевым сигналом такого изменения может выступать повышение уровня АФК, приводящее к изменению экспрессии генов.

Окислительная модификация белков (ОМБ) считается одним из ранних и надежных индикаторов нарушения редокс-гомеостаза [7]. При этом одним из проявлений ОМБ является повышение карбонильных производных белков. Продукты ОМБ имеют длительный период полураспада; их количество возрастает не только в результате посттрансляционной окислительной модификации, но и в результате протеолитической деструкции.

Рак яичников (РЯ) во многих странах занимает 5-ое ранговое место среди злокачественных заболеваний и встречается во всех возрастных группах, начиная с младенчества. Стандартизированные показатели заболеваемости РЯ в России увеличились на 20,4 % (с 9,3 на 100 000 в 1989 году до 11,2 на 100 000 в 2010 г.) [11]. Основным ограничением для успешного лечения РЯ является развитие лекарственной устойчивости к комбинированной химиотерапии [1]. При этом также важно, чтобы длительная адъювантная химиотерапия не привела к развитию вторичных опухолей. Для комбинированной химиотерапии обычно подбирают противоопухолевые препараты, различающиеся по механизму действия. Схема CAP предполагает использование двух препаратов – цисплатина и циклофосфида – из группы соединений алкилирующего действия. Препараты этой группы вызывают нарушения репликации ДНК, приводящие к мутациям и гибели клеток. Соответственно, они обладают не только противоопухолевым, но и мутагенным действием. Третий препарат, используемый по схеме CAP, – доксорубин. Это противоопухолевый антибиотик. Он вызывает интеркаляцию и ковалентное связывание ДНК и стимулирует образование свободных радикалов.

Целью исследования была оценка окислительной модификации белков (ОМБ) в эритроцитах больных раком яичников после полихимиотерапии по схеме CAP.

Материал и методы

Обследуемая группа состояла из 25 первичных больных раком яичников (РЯ) на III стадии по FIGO, подвергавшихся обследованию в гинекологическом отделении Ульяновского областного клинического онкологического диспансера. Контрольную группу составили практически здоровые женщины. Больные были обследованы через 3 и 14 дней после первого и 3 и 14 дней после второго курса полихимиотерапии по схеме CAP (цисплатин 75 мг/м², доксорубин 40 мг/м² и циклофосамид 600 мг/м²). Интервал между курсами составил 21 день. В эритроцитах, полученных из ве-

нозной крови, для оценки уровня ОМБ, проводили реакцию с 2,4-динитрофенилгидразином по методу Дубининой Е.В. [4], которую регистрировали спектрофотометрически при $\lambda=356$ нм (альдегидные группы нейтрального характера), $\lambda=370$ нм (кетонные группы нейтрального характера), $\lambda=430$ нм (альдегидные группы основного характера) и $\lambda=530$ нм (кетонные группы основного характера). Значения продуктов ОМБ пересчитали на 1 мг белка. Поскольку распределение в выборках отличалось от нормального, для оценки достоверности различий между группами использовали непараметрический критерий Манна-Уитни (Stata v.6.0). Различия считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$ от уровня контрольной группы.

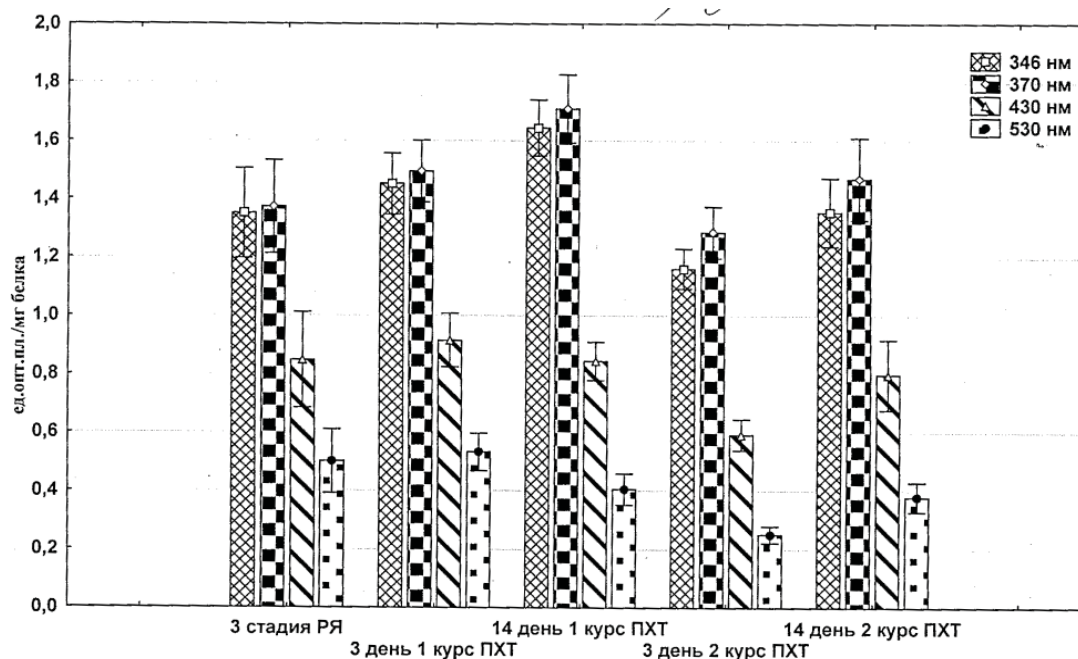
Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований установлено повышение уровня продуктов ОМБ у больных РЯ по сравнению с донорами. Содержание альдегидных групп нейтрального характера при 346 нм у больных РЯ составило $1,35 \pm 0,106$ ед против $1,24 \pm 0,06$ ед в контроле. Количество кетонных групп нейтрального характера, регистрируемое при 370 нм, составило $1,37 \pm 0,74$ ед против $1,25 \pm 0,56$ ед в контроле. Содержание карбонильных производных основного характера, регистрируемых при $\lambda=530$ нм, составило $0,501 \pm 0,035$ ед против $0,368 \pm 0,028$ ед в контроле. Повышение уровня продуктов ОМБ может свидетельствовать о возникновении карбонильного стресса на III клинической стадии РЯ.

Первые исследования по изучению уровня карбонильных производных окисленных белков проводились на модельных системах, в том числе на эритроцитах человека [12].

Показано, что повышение уровня карбонильных производных является одним из ранних и значимых маркеров окислительного повреждения при многочисленных патологических состояниях и старении организма. В результате проведенных исследований нами установлено, что химиотерапия по схеме CAP у больных РЯ на III-ей клинической стадии заболевания через 3 дня после I-го курса вызывает достоверное и значимое увеличение в эритроцитах кетонных и альдегидных групп нейтрального характера, содержание которых продолжает нарастать к 14 дню после введения (рисунок). Содержание альдегидных и кетонных групп основного характера при этом снижалось и значимое и достоверное снижение имело место через 14 дней после введения.

Второй курс ПХТ по схеме CAP на 3-й день после введения сопровождался снижением уровня всех изучаемых продуктов ОМБ как относительно показателей у первичных больных РЯ (рисунок).



Содержание продуктов ОМБ в эритроцитах больных РЯ при полихимиотерапии по схеме САР

Однако через 14 дней после введения содержания продуктов ОМБ в эритроцитах вновь возрастает. Уровень кетонных и альдегидных групп нейтрального характера возрастает до уровня первичных больных РЯ; количество альдегидных и кетонных групп не достигает уровня первичных больных.

Заключение

Используемые при ПХТ РЯ по схеме САР препараты призваны индуцировать в опухолевых клетках генерацию АФК, осуществляя, таким образом, редокс-направленную терапию рака. Полученные нами результаты позволяют предполагать при этом изменение редокс-статуса эритроцитов, что повышает вероятность нарушения редокс-сигнализации и в тканях организма-опухоленосителя.

Работа поддержана гос. заданием МИ-НОБНАУКИ России.

Список литературы

1. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женской половой сферы // Онкогинекология. – 2012. – №1. – С.18-23.
2. Антонева И.И. Система «перекисное окисление липидов – антиоксиданты» в организме-опухоленосителе в клинике и эксперименте / И.И. Антонева, Т.В. Абакумова, Т.П. Генинг, Д.Р. Арсланова, С.О. Генинг, Н.В. Емелькин // Фундаментальные исследования. – 2011. – №11. – С.13-16.
3. Генинг Т.П. Сравнительная характеристика оксидативного стресса при раке шейки матки на разных клинических стадиях заболевания / Т.П. Генинг, И.И. Антонева, Д.Р. Арсланова, Е.Г. Сидоренко // Опухоли женской репродуктивной системы. – 2011. – №4. – С. 55-58.

4. Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. Жизнь и смерть, создание и разрушение. – СПб, 2006. – 397 с.

5. Мартинович Г.Г. Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии / Г.Г. Мартинович, И.В. Мартинович, Е.Н. Голубева, С.Н. Черенкевич, Ю.Е. Демидчик, Ю.М. Гаин, Т.Э. Владимирская, М.Л. Луцкич // Вестник национальной академии наук Беларуси. Серия мед. наук. – 2012. – №2. – С.85-103.

6. Меньшикова Е.Б. Окислительный стресс: патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньшикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин. – Новосибирск, 2008. – 284 с.

7. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* – 2002. – V.82, №1. – P. 47-95.

8. Kinnula V.L. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumours / V.L. Kinnula, J.D. Crapo // *Free Radic Biol Med.* – 2004. – Vol.36. – P. 718-44.

9. Lopez-Lazaro M. A new view of carcinogenesis and an alternative approach to cancer therapy // *Mol Med.* – 2010. – Vol.16(3-4). – P. 144-153.

10. Lopez-Lazaro M. Excessive superoxide anion generation plays a key role in carcinogenesis // *Int J Cancer.* – 2007. – Vol.120 (6). – P.3075-3083.

11. Seyfried T.N. Cancer as a metabolic disease / T.N. Seyfried, L.M. Shelton // *Nutr Metab (Lond).* – 2010. – Vol.7. – P.7.

12. Yin F. Tumor suppressor genes associated with drug resistance in ovarian cancer (review) / F. Yin, X. Liu, D. Li, Q. Wang, W. Zhang, L. Li // *Oncol Rep.* – 2013. – Vol.30(1). – P.3-10.

13. Zhang Y. Reactive oxygen species (ROS), troublemakers between nuclear factor- κ B (NF- κ B) and c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) / Y. Zhang, F. Chen // *Cancer Res.* – 2004. – Vol.64. – P.1902-1905.

References

1. Axel, E.M. Statistika of malignant new growths of the female sexual sphere. // *Onkoginekologiya.* 2012. No. 1. P.18-23.
2. Antoneeva, I.I. Sistema «perekisny oxidation of lipids – antioxidants» in an organism-opukhloenositele in clinic and ex-

- periment / I.I. Antoneeva, T.V. Abakumov, T.P. Gening, D.R. Arslanov, S. O. Gening, N. V. Emelkin//Basic researches. 2011 . No. 11. P. 13-16.
3. Gening, T.P. the comparative characteristic of an oksidativny stress at a cancer of a neck of a uterus at different clinical stages of a disease / T.P. Gening, I.I. Antoneev, D. R. Arslanov, E.G. Sidorenko//Tumours of female reproductive system. 2011 . No. 4. P. 55-58.
4. Dubinina, E.E. products of a metabolism of oxygen in functional activity of cages. Life and death, creation and destruction. – SPb, 2006. – 397 p.
5. Martinovich, G.G. Redoks-biotekhnologii as a basis for new strategy in antineoplastic Therapies / Martinovich, I.V. Martinovich, E.N. Golubeva, S. N. Cherenkevich, Yu.E. Demidchik, Yu.M. Gain, T.E. Vladimirskaia, M. L. Lushchik//Messenger of national academy of Sciences of Belarus. Series of medical sciences. 2012 . No. 2. P.85-103.
6. Menshikova, E.B. oxidizing stress: pathological states and disease / E.B. Menshikova, N. K. Zenkov, V. Z. Lankin – Novosibirsk, 2008. – 284 p.
7. Droge, W. Free radicals in the physiological control of cell function // *Physiol. Rev.* 2002. V.82, №1. P. 47-95.
8. Kinnula, V.L. Superoxide dismutases in malignant cells and human tumours / V.L. Kinnula, J.D. Crapo // *Free Radic Biol Med* 2004. Vol.36. P. 718-44.
9. Lopez-Lazaro, M. A new view of carcinogenesis and an alternative approach to cancer therapy // *Mol Med.* 2010. Vo.16(3-4). P. 144-153.
10. Lopez-Lazaro, M. Excessive superoxide anion generation plays a key role in carcinogenesis // *Int J Cancer.* 2007. Vol.120 (6). P.3075-3083.
11. Seyfried, T.N. Cancer as a metabolic disease / T.N. Seyfried, L.M. Shelton // *Nutr Metab (Lond).* 2010. Vol.7. P.7.
12. Yin, F. Tumor suppressor genes associated with drug resistance in ovarian cancer (review) / F. Yin, X.Liu, D.Li, Q.Wang, W.Zhang, L.Li // *Oncol Rep.* 2013. Vol.30(1). P.3-10
13. Zhang, Y. Reactive oxygen species (ROS), troublemakers between nuclear factor- κ B (NF- κ B) and c-Jun NH2-terminal kinase (JNK) / Y. Zhang, F. Chen // *Cancer Res.* 2004. Vol.64. P.1902-1905.

Рецензенты:

Родионов В.В., д.м.н., профессор, заведующий II хирургическим отделением ГУЗ Областной клинической онкологической диспансер, врач высшей квалификационной категории, ГУЗ ОКОД, г. Ульяновск;

Песков А.Б., д.м.н., профессор, декан постдипломного медицинского и фармацевтического образования ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет», г. Ульяновск.

Работа поступила в редакцию 30.06.2014.