

*Федотова А.Ю., Долгова Д.Р., Генинг Т.П., Абакумова Т.В.,  
Генинг С.О., Насырова Е.Ю., Величко Т.И.*

## **РОЛЬ РЕДОКС-ЗАВИСИМЫХ ПРОЦЕССОВ В НАРУШЕНИИ МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ФОРМАХ РАКА ЯИЧНИКОВ**

Институт медицины, экологии и физической культуры ФГБОУ ВПО Ульяновский государственный университет,  
г. Ульяновск, Российская Федерация

**Резюме.** При действии различных повреждающих факторов, к числу которых относят интенсификацию процессов свободнорадикального окисления, возникают типичные деструктивные изменения мембраны эритроцитов. При этом происходит уплотнение и деструкция липидного бислоя, нарушается активность ферментных белков и функционирование мембран-рецепторного комплекса. В эритроцитах белых беспородных половозрелых крыс с экспериментальным раком яичников в стационарную и терминальную фазы роста опухоли спектрофотометрически оценивали уровень продуктов окислительной модификации белков основного и нейтрального характера по методу Levina R.L., содержание малонового диальдегида в тесте с тиобарбитуровой кислотой, уровень диеновых конъюгатов, кетодиенов, оснований Шиффа по интенсивности поглощения при длинах волн 232, 278 и 400 нм по методу Волчегорского И.А. в гептановом экстракте. Изучали биохимическую активность супероксиддисмутазы с нитросиним тетразолием по методу Nishikimi M., каталазы по скорости утилизации перекиси водорода, глутатион-трансферазы по скорости ферментативного образования GS-2,4-динитробензола и глутатиона восстановленного с использованием дитио-биснитробензойной кислоты по методу Ellman. В результате проведенных исследований установлено увеличение уровня малонового диальдегида, активности каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы и глутатион-трансферазы в эритроцитах крыс-опухолесосителей на различных стадиях опухолевого роста. Также установлено прогрессивное увеличение окислительной модификации белков при 346 нм, 370 нм и 430 нм. Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что развитие злокачественного процесса в организме в стационарную и терминальную фазы экспериментального рака яичников сопровождается нарушением функционального состояния эритроцитов, что проявляется активацией перекисного окисления липидов, истощением пула восстановленного глутатиона, разнонаправленными изменениями активности антиоксидантных ферментов, что характеризует состояние окислительного стресса.

**Ключевые слова:** экспериментальный рак яичников, эритроциты, ферментативная антиоксидантная система, перекисное окисление липидов, окислительная модификация белков

Типичные деструктивные изменения мембраны эритроцитов возникают при действии различных повреждающих факторов, к числу которых относят интенсификацию процессов свободнорадикального окисления [1]. Усиление в мембране эритроцитов перекисного окисления липидов (ПОЛ) приводит к уплотнению и деструкции липидного бислоя. Нарушается функциональная активность белков и функционирование мембран-рецепторного комплекса. При этом свободнорадикальное окисление повышает доступность компонентов мембраны эритроцитов для протеиназ и фосфолипаз, усугубляет уже имеющийся дефицит энергии [2]. В течение жизни эритроцита происходит необратимое уменьшение его поверхности в результате микровезикуляции. При этом удаляются поврежденные участки цитоплазматической мембраны. Активация ПОЛ усиливает процесс микровезикуляции. На поверхности клеточной мембраны выходят фосфолипиды с тромбопластиновой активностью. Гемолизированные формы и фрагменты эритроцитарных мембран в кровотоке усиливают внутрисосудистое свертывание крови.

Уровень активных форм кислорода (АФК) контролируется многокомпонентной антиоксидантной системой (АОС). По механизму действия различают неспецифическую и специфиче-

скую АОС. Последняя снижает уровень оксидантов путем прямого разрушения и связывания АФК и образующихся радикалов. К ферментативным элементам этой АОС относят супероксиддисмутазу (СОД), каталазу, глутатион-редуктазу (ГР), глутатион-S-трансферазу (ГТ). К низкомолекулярным соединениям с антиоксидантным действием относится восстановленная форма глутатиона (GSH). Повышение уровня ПОЛ - не единственный индикатор активации процессов генерации. Показано, что наиболее ранним и надежным индикатором поражения тканей при свободнорадикальной патологии является окислительная модификация белков. Установлено, что именно белки, а не липиды и нуклеиновые кислоты, являются эффективными ловушками АФК [3].

Установлено, что возникновение и развитие неоплазмы сопровождается нарушениями в эритроцитной мембране различной степени выраженности. Следствием напряжения эритроидного ростка кроветворения при этом является декомпенсация эритропоэза, изменение функционального состояния мембран эритроцитов, нарушение реологических свойств крови. В результате нарастают явления тканевой гипоксии, что утяжеляет течение основного заболевания. Постулируется существование типовых нарушений мембраны эритроцитов при различной патологии [4]. Неспецифические изменения мембраны эритроцитов, сопровождающие развитие неоплазмы, были обнаружены в клинике при раке легкого, головы и шеи, желудка, кишечника [5,6]. При этом выявлялись нарушения липидного спектра мембраны эритроцитов, увеличение вязкости ее липидного бислоя, нарушение белок-липидных и липид-липидных взаимодействий. Снижалось содержание высокомолекулярных полипептидов при одновременном увеличении доли низкомолекулярных белков, нарушалось функционирование катион-транспортных мембранных систем и отмечалась дезорганизация поверхностной архитектоники эритроцитов [7].

**Целью данного исследования** явилось изучение редокс-зависимых процессов при прогрессировании экспериментально-го рака яичников.

### **Материалы и методы исследования**

Экспериментальные исследования были проведены на 52 белых беспородных крысах массой 180-200г., которые были разделены на контрольную и опытные группы.

Модель рака яичников воспроизводили путем перевивки опухолевого штамма, (НИИ Экспериментальной диагностики и терапии опухолей РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН г. Москва). Трансплантируемая асцитная опухоль яичника была получена Е.Е. Погосянц, Е.Л. Пригожиной и Н.Л. Еголиной в 1958 г. Исходный гистологический тип опухоли – метастазирующая папиллярная аденокарцинома, в настоящее время – асцитная опухоль. После предварительного пассажа на 8-ой день после внутрибрюшинной перевивки от одной крысы был взят асцит и перевит животным экспериментальной группы в объеме 0,5 мл 9-дневного инокулята (АЖ с не менее 106 опухолевых клеток) в травном объеме питательной среды 199 на 100 гр массы животного. Прогрессирование данного типа опухоли проходит в 3 фазы: логарифмическая (с 4-суток после перевивки), стационарная (с 8-суток после перевивки), терминальная стадия (с 13 суток после перевивки). Использовались животные с перевиваемой асцитной опухолью РЯ в стационарную (8–12 сутки) и в терминальную фазы (13–17 сутки). Все животные содержались в стандартных условиях вивария при естественном освещении и свободном доступе к воде и корму. Были соблюдены правила гуманного обращения с животными, кото-

рые регламентированы «Правилами проведения работ и использования экспериментальных животных», утвержденных Приказом МЗ СССР №755 от 12 августа 1977 г., положениями Хельсинской Декларации Всемирной Медицинской Ассоциации от 1964 г., дополненной в 1975, 1983 и 1989 гг., а также требованиями этического комитета Института медицины, экологии и физической культуры Уральского государственного университета.

Интенсивность ПОЛ в эритроцитах оценивали по уровню диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов (КД), шиффовых оснований (ШО) по интенсивности поглощения при длинах волн соответственно 232, 278 и 400 нм в гептановом экстракте по методу Волчегорского И.А. (1989). Уровень малонового диальдегида (МДА) определяли в тесте с тиобарбитуровой кислотой по методу Андреевой Л.И. и др. (1988). Содержание продуктов окислительной модификации белков (ОМБ) оценивали при 346 нм, 370 нм, 430 нм, 530 нм по методу Levina R.L.(1990) в модификации Дубининой Е.Е. (2000). Активность СОД оценивали по способности этого антиоксидантного энзима конкурировать с нитросинимтетразолием (НСТ) за супероксидный анион по методу Nishikimi M (1972). Активность каталазы оценивали по определению скорости утилизации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> по методу Карпищенко А.И. (1999). Активность ГТ оценивали по скорости ферментативного образования GS-2,4-динитробензола в катализируемой ферментом реакции восстановления глутатиона с 1-хлор-2,4-динитробензолом. Активность ГР определяли по методу Карпищенко А.И., (1999). Уровень восстановленного и окисленного глутатиона определяли с использованием дитио-бис-нитробензойной кислоты (ДНТБ) по методу Ellmana (1972). Активность антиоксидантных ферментов и уровень продуктов ПОЛ пересчитывали на 1 грамм гемоглобина для эритроцитов.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием непараметрического критерия Манна-Уитни (Stata 6.0) и стандартных пакетов «Microsoft Excel», 2007. Различия считались статистически значимыми при  $p \leq 0,05$  от уровня контрольной серии.

### Результаты и их обсуждение

Под редокс-зависимыми процессами сегодня понимают процессы с участием свободных радикалов.

Диеновые конъюгаты (ДК), являющиеся первичными продуктами ПОЛ, относятся к токсическим метаболитам, которые оказывают повреждающее действие на липопротеиды, белки, ферменты и нуклеиновые кислоты. Шиффовы основания (ШО) образуются в результате обратимой реакции между карбонильной группой альдегида или кетона со свободной аминогруппой. Непрерывное накопление оснований Шиффа дестабилизирует мембраны и способствует деструкции клеток [8]. МДА, вторичный продукт ПОЛ, сшивает молекулы липидов и понижает текучесть эритроцитарной мембраны. Повышение уровня ПОЛ провоцирует синдром интоксикации. В результате проведенных исследований нами установлено значимое возрастание ряда параметров ПОЛ в эритроцитах крыс с экспериментальным РЯ в стационарной и терминальной фазе роста опухоли (табл. 1.)

Таблица 1

Параметры липопероксидации в эритроцитах крыс при прогрессировании экспериментального рака яичников

Показатели Группы	МДА, мкмоль/гр Hb	ДК, у.е./ гр Hb	КД, у.е./гр Hb	ШО, у.е./гр Hb
Контроль (n=16)	4,38±0,80	0,11±0,01	0,0160±0,002	0,005±0,001
Стационарная фаза РЯ (n=18)	6,69±0,61*	0,18±0,020*	0,0180±0,002	0,004±0,001
Терминальная фаза (n=18)	7,19±0,50*	0,17±0,01*	0,022±0,003*	0,007±0,001

Примечание: \* данные, достоверно отличающиеся от аналогичных данных в контроле

На сегодня считается установленным повышение уровня МДА в эритроцитах при прогрессировании злокачественных опухолей различной локализации [9]. Хотя, в 1967 году были опубликованы

результаты исследования, в котором методом магнитной радиоспектроскопии электронного парамагнитного резонанса в эритроцитах больных раком желудка на 1 и 2 клинических стадиях было зарегистрировано существенное снижение содержания свободных радикалов [10]. Усиление ПОЛ особое значение имеет в образовании эндогенных альдегидов, которые в отличие от свободнорадикальных интермедиатов являются стабильными метаболитами [11, 12]. Это обеспечивает их дистантное действие на молекулы-мишени [12]. Альдегиды вступают во взаимодействие со свободными аминогруппами, с сульфгидрильными группами аминокислотных радикалов, выступая при этом в качестве «вторичных цитотоксических мессенджеров» [12]. До 60% всех образующихся альдегидов катаболизируются путем конъюгации с глутатином.

Нами установлено прогрессирующее снижение уровня GSH и отношения GSH/GSSG в эритроцитах в динамике экспериментального РЯ (рис. 1).

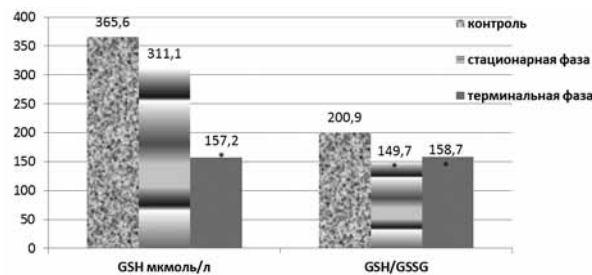


Рис.1. Изменение уровня GSH и отношения GSH/GSSG в эритроцитах в динамике экспериментального РЯ.

Процесс конъюгации альдегидов с глутатином может происходить и неферментативно, однако в эритроцитах до 70% их утилизируется с участием глутатион-S-трансферазы [13]. Этот фермент представляет центральным звеном детоксикации альдегидов. Показано, что от его активности зависит устойчивость клеток к токсическому действию альдегида, с чем, видимо, связана его защитная роль при оксидативном стрессе [14]. Также показано, что оксидативный стресс сопровождается усилением экспрессии гена, кодирующего GST [15]. В результате проведенных исследований нами установлено возрастание активности ГТ в эритроцитах в динамике экспериментального РЯ (табл. 2)

Таблица 2

Активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах крыс при экспериментальном РЯ

Показатели Группы	СОД, у.е./ гр Hb	Каталаза, ммоль/мин/ гр Hb	ГТ, мкмоль/ мин/гр Hb	ГР, мкмоль/ мин/гр Hb	ГПО, ммоль/мин/ гр Hb
Контроль n=16	1,185±0,064	10,37±0,89	0,063±0,003	0,089±0,026	0,584±0,057
Стационарная фаза (n=18)	1,253±0,082	16,13±0,14*	0,087±0,005*	0,045±0,010*	0,617±0,051
Терминальная фаза (n=18)	1,374±0,127	13,16±1,24*	0,076±0,007*	0,069±0,015	0,367±0,045*

Примечание: \* — данные, значимо отличающиеся от аналогичных данных в контроле

Дезорганизация молекулярной структуры мембраны эритроцитов в результате воздействия свободных радикалов и продуктов ПОЛ как универсальный ответ возникает, по мнению авторов [4], при одновременном снижении активности антиоксидантной системы (АОС). Нами установлена разнонаправленная динамика активности антиоксидантных ферментов в эритроцитах крыс в динамике экспериментального РЯ (табл. 2). Так, активность СОД, ключевого фермента антирадикальной защиты клеток, инактивирующего супероксиданион-радикал, значимо не изменялась. СОД работает в каскаде ферментов, способных разлагать перекись водорода — каталазой и ГПО. Особенностью функционирования СОД является то, что в присутствии избыточного количества

супероксид-аниона фермент образует реакционноспособный гидроксильный радикал, который атакует белковую молекулу СОД, приводя ее к фрагментации и потере активности. При этом значительно возрастала в стационарную фазу и сохранилась повышенной в терминальную фазу активность каталазы (табл.2). Одновременно резко снижалась активность ГПО в терминальную фазу и активность ГР в стационарную фазу (табл.2). Подобная разнонаправленная динамика ферментов АОЗ при значимом выраженном повышении уровня ПОЛ может свидетельствовать о возникновении окислительного стресса [16, 17].

На сегодня считается общепризнанным, что окислительная модификация белков (ОМБ) является одним из ранних и надежных маркеров поражения ткани при свободнорадикальной патологии и, в частности, при злокачественных опухолевых заболеваниях [18, 19]. При этом регистрируется повышение либо отсутствие изменений спонтанной ОМБ [20–22]. В результате проведенных исследований нами установлено значимое возрастание продуктов спонтанной ОМБ (табл. 3).

Таблица 3

Уровень продуктов окислительной модификации белков в эритроцитах крыс в динамике экспериментального рака

Показатели Группы	346 нм, ед.опт.пл./гр Hb	370нм, ед.опт.пл./гр Hb	430 нм, ед.опт.пл./гр Hb	530 нм, ед.опт.пл./гр Hb
Контроль n=16	0,039±0,003	0,050±0,003	0,027±0,003	0,010±0,026
Стационарная фаза РЯ n=18	0,066±0,004*	0,082±0,005*	0,043±0,003*	0,015±0,001*
Терминальная фаза n=18	0,073±0,006*	0,086±0,006*	0,046±0,005*	0,016±0,002*

Примечание: \* — данные, значимо отличающиеся от аналогичных данных в контроле

АФК и продукты ПОЛ рассматриваются в качестве основных индукторов ОМБ. Наиболее важным следствием ОМБ является инактивация ферментов. Модификация белков делает их более чувствительными к протеолизу. Удаление модифицированных белков идет двумя механизмами: с помощью протеасом и протеаз [23, 24]. Следовательно, накопление поврежденных белков может быть также результатом снижения активности протеазных систем или функции протеасом. Было также высказано предположение, что развитие карбонильного стресса может быть и без избыточной генерации АФК, снижения АОЗ и активности протеаз. Этот путь карбонилирования связан с образованием абберантных белков при действии стресс-факторов либо нарушении трансляции [25].

### Заключение

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют, что развитие злокачественного процесса в организме в стационарную и терминальную фазы экспериментального РЯ сопровождается нарушением функционального состояния эритроцитов, что проявляется активацией ПОЛ, истощением пула восстановленного глутатиона, разнонаправленными изменениями активности антиоксидантных ферментов, что в целом характеризует состояние оксидативного стресса. Повышение уровня продуктов ОМБ при этом определяет состояние карбонильного стресса.

### ЛИТЕРАТУРА

- Боровская М.К. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменения при патологиях разного генеза / Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. // Бюллетень Восточно-сибирского научного центра СО РАМН. 2010. №3 (73). С.334-354.
- Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология. М., «Медицина». 2002. 632 с.
- Caraceni P. Proteins but not nucleic acids are molecular targets for the free radical attack during reoxygenation of rat hepatocytes / P.Caraceni , N.De Maria , H.S.Ryu // Free Radic Biol Med. 1997. Vol.23(2). pp.339-44.
- Новицкий В.В. Молекулярные нарушения мембраны эритроци-

тов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / Новицкий В.В., Рязанцева Н.В., Степовая Е.А.// Бюллетень сибирской медицины. 2006. №2. С.62-69.

5. Новицкий В.В. Эритроциты и злокачественные образования / Новицкий В.В., Степовая Е.А., Гольдберг В.Е.. Томск: STT, 2000. 288с.

6. Bruce L.J. A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane / Bruce L.J, Beckmann R., Ribeiro M.L.// Blood. 2003. Vol.101(10). pp.4180-8.

7. Степовая Е.А. Роль нарушений структуры мембраны и метаболизма эритроцитов в развитии анемии у больных со злокачественными новообразованиями / Е.А.Степовая, В.В.Новицкий, Н.В. Рязанцева // Гематология и трансфузиология. 2003. Т.48 (5). С.11–17.

8. Тарасов Н.И. Состояние перекисного окисления липидов, антиоксидантной защиты крови у больных инфарктом миокарда, отягощенным недостаточностью кровообращения / Н.И.Тарасов, А.Т.Тепляков, Е.В.Малахович // Тер. архив. 2002. №12. С.12-15.

9. Victorino V.J. Overexpression of HER-2/neu protein attenuates the oxidative systemic profile in women diagnosed with breast cancer /Victorino V.J., Campos F.C, Herrera A.C. et al // Tumour Biol. 2014. Vol.35(4). pp.3025-34.

10. Петяев М.М. Проблема комплексной диагностики злокачественных новообразований с помощью методов спектроскопии и кибернетики / Сб. «Вопросы гигиены, профпатологии и онкологии в Сибири». Ангарск, 1967. Т.1, вып.3. С.108-114

11. Spittler G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases // Exp.Gerontol. 2001. Vol.36(9). pp.1425-57.

12. Nakamura Y. Redox regulation of glutathione S-transferase induction by benzyl isothiocyanate: correlation of enzyme induction with the formation of reactive oxygen intermediates / Nakamura Y., Ohigashi H., Masuda S. et al // Cancer Res. 2000. Vol.60(2). pp.219-25.

13. Srivastava S. Metabolism of lipid peroxidation product, 4-hydroxynonenal (HNE) in rat erythrocytes: role of aldose reductase / Srivastava S., Dixit B.L, Cai J. et al // Free RadicBiol Med. 2000. Vol.29(7). pp.642-51.

14. Singh S.P. Catalytic function of Drosophila melanogaster glutathione S-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation end products / Singh S.P., Coronella J.A, Benes H. // Eur J Biochem. 2001. Vol.268(10). pp.2912-23.

15. Xie C. Expression of glutathione-S-transferase isozyme in the SY5Y neuroblastoma cell line increases resistance to oxidative stress / Xie C., Lovell M.A, Xiong S.// Free RadicBiol Med. 2001. Vol.31(1). pp.73-81.

16. Beckman K.B. The free radical theory of aging matures / Beckman K.B., Ames B.N. // Phys.Rev. 1998. Vol.78. pp.548-581

17. Сазонтова Т.Г. Значение баланса прооксидантов и антиоксидантов – равнозначных участников метаболизма / Т.Г.Сазонтова, Ю.В.Архипенко // Патфизиология и экспериментальная терапия. 2007. №3. С.2-18.

18. Белоногов Р.Н. Изменение показателей тиолового гомеостаза в эритроцитах больных раком легкого на различных стадиях опухолевой прогрессии / Белоногов Р.Н., Титова Н.М., Савченко А.А.// Российский биотерапевтический журнал. 2013. Т.12, № 1. С.47-50.

19. Griffiths H.R. Antioxidants and protein oxidation // Free Radic Res. 2000. Vol.33. pp.47-58.

20. Горошинская И.А. Интенсивность хемиллюминисценции, состояние антиоксидантной системы и окислительная модификация белков плазмы крови при развитии рецидива рака яичников / Горошинская И.А., Неродо Г.А., Сурикова Б.И. // Сибирский онкологический журнал. 2013. №4 (58). С.45-49.

21. Chih-Ching Y. Protein carbonyl levels, glutathione-S-transferase polymorphisms and risk of colorectal cancer / Chih-Ching Y., Ching-Yu L., Ling-Ling H. // Carcinogenesis. 2010. Vol.31(2). pp.228-233.

22. Rasheed Z.. Reactive oxygen species damaged human serum albumin in patients with hepatocellular carcinoma / Rasheed Z., Ahmad R., Rasheed N. // J.Exp.Clin.Cancer Res. 2007. Vol.26(3). pp.395-404.

23. Friguet B. Protein degradation by the proteasome and its implications in aging / Friguet B., Bulteau A.L, Chondrogianni N. // Ann.NY.Acad Sci. 2000. Vol.908. pp.143-54.

24. Shringarpure R. Ubiquitin conjugation is not required for the degradation of oxidized proteins by proteasome / Shringarpure R., Grune T., Mehlhase J.// J.Biol Chem. 2003. Vol.278(1). pp.311-8.

25. Nystrom T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence // The EMBO Journal. 2005. Vol.24. pp.1311-1317.

Авторская справка

Федотова Антонина Юрьевна

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

Аспирант кафедры физиологии и патофизиологии

Российская Федерация, 432017, г. Ульяновск, ул. Л.Толстого, 42.

tonechkatuzeeva@mail.ru

Долгова Динара Ришатовна

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

К.б.н., с.н.с., доцент кафедры физиологии и патофизиологии

dolgova.dinara@yandex.ru

Генинг Татьяна Петровна

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

Д.б.н., профессор, зав.кафедрой физиологии и патофизиологии, в.н.с., академик

РАЕН

Naum-53@yandex.ru

Абакумова Татьяна Владимировна

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

К.б.н., с.н.с., доцент кафедры физиологии и патофизиологии

taty-abakumova@yandex.ru

Генинг Снежанна Олеговна

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

Инженер-исследователь Научно-исследовательского медико-биологического центра

sgening@bk.ru

Насырова Елена Юрьевна

ФГБОУ ВПО «Ульяновский государственный университет»

Аспирант кафедры общей и клинической фармакологии с курсом микробиологии

nasyrov2003@list.ru

Величко Татьяна Ивановна

к.б.н., доцент кафедры гуманитарных дисциплин и психологии

ФГБОУ ВПО «Самарский государственный университет»

Российская Федерация, 443011, Самара, ул. Акад.Павлова, 1.

tivelichko@mail.ru

*Fedotova A.Yu., Dolgova D.R., Gening T.P.,  
Abakumova T.V., Gening S.O., Nasyrova E.Yu.,  
Velichko T.I.*

## **THE ROLE OF REDOX-DEPENDENT PROCESSES IN VIOLATION OF MORPHO- FUNCTIONAL STATE OF ERYTHROCYTES IN THE COMMON FORMS OF OVARIAN CANCER**

Ulyanovsk State University, Ulyanovsk, Russian Federation

**Abstract.** The action of various damaging factors, which include the intensification of free radical oxidation, promotes typical destructive changes in the erythrocyte membrane. Thus, there is a sealing and destruction of the lipid bilayer, the violation of the enzyme proteins activity and of membrane-receptor complex functioning. We evaluated the levels of neutral and base products of oxidative modification of proteins by spectrophotometry using the Levin R.L method, the content of malondialdehyde using the test with thiobarbituric acid, the level of diene conjugates, ketodienes, Schiff bases absorption intensity at wavelengths 220, 232, 278 and 400 nm by the Volchegorskiy I.A method in the red blood cells of mature albino rats with experimental ovarian cancer. We found the increased level of malondialdehyde, catalase, superoxide dismutase, glutathione-reductase and glutathione-S-transferase activity in tumor-bearing rats erythrocytes at various

stages of tumor growth. Also, we found a progressive increase of the oxidative modification of proteins at 346 nm, 370 nm and 430 nm. Thus, the results of the studies indicate that the development of experimental ovarian cancer in the body at stationary and terminal phases is accompanied by violation of the functional state of erythrocytes, which is manifested by activation of lipid peroxidation, depletion of reduced glutathione pool, and multi-directional changes in the activity of antioxidant enzymes, which characterizes the state of oxidative stress.

**Keywords:** experimental ovarian cancer, red blood cells, enzymatic antioxidant system, lipid peroxidation, oxidative modification of proteins

### REFERENCES

1. Borovskaya M.K Structural and functional characteristics of erythrocyte membrane and its changes in the pathology of different genesis. Borovskaya M.K, Kuznetsova E.E, Gorokhova V.G et al.. Bulletin of the East Siberian Scientific Center of SB RAMS. 2010. Vol.3(73). pp.334-354.

2. Kryzhanovsky G.N. Disregulative pathology. M.»Medicine», 2002. - 632 p.

3. Caraceni P. Proteins but not nucleic acids are molecular targets for the free radical attack during reoxygenation of rat hepatocytes. P.Caraceni , N.De Maria , H.S.Ryu. Free Radic Biol Med. 1997. Vol.23(2). pp.339-44.

4. Novitsky V.V. Erythrocyte membrane molecular abnormalities in the pathology of different genesis are a typical reaction of the organism: the contours of the problem. Novitsky V.V, Ryazantseva N.V Stepovaya E.A. Bulletin of Siberia medicine. 2006. Vol.2. pp.62-69.

5. Novitsky V.V, Stepovaya E.A, Goldberg V.E. Red blood cells and malignant formations. Tomsk, STT, 2000. 288p.

6. Bruce L.J. A band 3-based macrocomplex of integral and peripheral proteins in the RBC membrane. Bruce L.J, Beckmann R., Ribeiro M.L. Blood.2003. Vol.101(10). pp.4180-7.

7. Stepovaya E.A. Role of membrane structure and metabolism violations of red blood cells in the development of anemia in patients with malignant tumors. Stepovaya E.A, Novitsky V.V, Ryazantseva N.V. Hematology and Transfusiology. 2003. Vol.48(5). pp.11-17.

8. Tarasov N.I. Status of lipid peroxidation, antioxidant protection in the blood of patients with myocardial infarction, burdened by circulatory failure. Teplyakov A.T, Malahovich E.V. Therapeutic archive. 2002. Vol.12. pp.12-15.

9. Victorino V.J. Overexpression of HER-2/neu protein attenuates the oxidative systemic profile in women diagnosed with breast cancer. Victorino V.J., Campos F.C, Herrera A.C. et al. Tumour Biol. 2014. Vol.35(4). pp.3025-34.

10. Petyaev M.M The problem of the complex diagnosis of malignant tumors using spectroscopic and cybernetics methods. In «Issues of Hygiene, Occupational Pathology and Oncology in Siberia.» Angarsk, 1967. Vol.1(3). pp.108-114.

11. Spittler G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases. Exp.Gerontol. 2001. Vol.36(9). pp.1425-57.

12. Nakamura Y. Redox regulation of glutathione S-transferase induction by benzyl isothiocyanate: correlation of enzyme induction with the formation of reactive oxygen intermediates. Nakamura Y., Ohigashi H., Masuda S. et al. Cancer Res. 2000. Vol.60(2). pp.219-25.

13. Srivastava S. Metabolism of lipid peroxidation product, 4-hydroxynonenal (HNE) in rat erythrocytes: role of aldose reductase. Srivastava S., Dixit B.L, Cai J. et al. Free Radic.Biol Med. 2000. Vol.29(7). pp.642-51.

14. Singh S.P. Catalytic function of Drosophila melanogaster glutathione S-transferase DmGSTS1-1 (GST-2) in conjugation of lipid peroxidation end products. Singh S.P., Coronella J.A, Benes H.. Eur J Biochem. 2001. Vol.268(10). pp.2912-23.

15. Xie C. Expression of glutathione-S-transferase isozyme in the SY5Y neuroblastoma cell line increases resistance to oxidative stress. Xie C., Lovell M.A, Xiong S. Free Radic Biol Med. 2001. Vol.31(1). pp.73-81.

16. Beckman K.B. The free radical theory of aging matures. Beckman K.B., Ames B.N.. Phys.Rev. 1998. Vol.78. pp.548-581.

17. Sazontova T.G. The value of the balance of antioxidants and pro-oxidants - equivalent members of metabolism. Sazontova T.G,

Archipenko Y. Pathophysiology and Experimental Therapy. 2007. Vol.3. pp.2-18.

18. Belonogov R.N. Characteristics of redox-depended modification of proteins in erythrocytes of patients with non-small cell lung cancer in relation with stage of the disease. Belonogov R.N., Titova N.M., Yu.A. Dykhno, A.A. Savchenko. Siberian Journal of Oncology. 2010. Vol.6(42). pp. 32-35.

19. Griffiths H.R. Antioxidants and protein oxidation. Free Radic Res. 2000. Vol.33. pp.47-58.

20. Goroshinskaya I.A. The intensity of the chemiluminescence, the antioxidant system state and oxidative modification of plasma proteins in the development of recurrent ovarian cancer. Goroshinskaya I.A., Nerodo G.A., Surikova B.I. Siberian Journal of Oncology. 2013. Vol.4(58). pp.45-49.

21. Chih-Ching Y. Protein carbonyl levels, glutathione-S-transferase polymorphisms and risk of colorectal cancer. Chih-Ching Y., Ching-Yu L., Ling-Ling H. Carcinogenesis. 2010. Vol.31(2). pp.228-233.

22. Rasheed Z.. Reactive oxygen species damaged human serum albumin in patients with hepatocellular carcinoma. Rasheed Z., Ahmad R., Rasheed N. J.Exp.Clin.Cancer Res. 2007. Vol.26(3). pp.395-404.

23. Friguet B. Protein degradation by the proteasome and its implications in aging. Friguet B., Bulteau A.L., Chondrogianni N. Ann. NY.Acad.Sci. 2000. Vol.908. pp.143-54.

24. Shringarpure R. Ubiquitin conjugation is not required for the degradation of oxidized proteins by proteasome. Shringarpure R., Grune T., Mehlhase J.. J.Biol.Chem. 2003. Vol.278(1). pp.311-8.

25. Nystrom T. Role of oxidative carbonylation in protein quality control and senescence. The EMBO Journal. 2005. Vol.24. pp.1311-1317.

#### Authors

Fedotova Antonina Yu.  
Ulyanovsk state University  
postgraduate department of physiology and pathophysiology  
Russian Federation, 432017, Ulyanovsk, str. L.Tolstogo, 42  
tonechkatuzeeva@mail.ru

Dolgova Dinara R.  
Ulyanovsk state University  
Candidate of Biological Sciences, senior research officer, associate professor  
department of physiology and pathophysiology  
Russian Federation, 432017, Ulyanovsk, str. L.Tolstogo, 42  
dolgova.dinara@yandex.ru

Gening Tatiana P.  
Ulyanovsk state University  
Doctor of Biological Sciences, full professor, head of department of physiology and pathophysiology  
Russian Federation, 432017, Ulyanovsk, str. L.Tolstogo, 42  
Naum-53@yandex.ru

Abakumova Tatiana V.  
Ulyanovsk state University  
Candidate of Biological Sciences, senior research officer, associate professor  
department of physiology and pathophysiology  
Russian Federation, 432017, Ulyanovsk, str. L.Tolstogo, 42  
taty-abakumova@yandex.ru

Gening Snezhanna O.  
Ulyanovsk state University  
Research engineer research medical-biological center  
Russian Federation, 432017, Ulyanovsk, str. L.Tolstogo, 42  
sgening@bk.ru

Nasyrova Elena Yu.  
Ulyanovsk state University  
postgraduate department of general and clinical pharmacology with course microbiology  
Russian Federation, 432017, Ulyanovsk, str. L.Tolstogo, 42  
nasyrov2003@list.ru

Velichko Tatiana I.  
Samara State University  
Candidate of Biological Sciences, associate professor, department of humanities and psychology  
Russian Federation, 443011, Samara, str. Akad.Pavlova 1  
tivelichko@mail.ru

УДК 612.112.9.91 + 615.373.34

*Циркин В.И., Анисимов К.Ю., Полежаева Т.В., Зайцева О.О.,  
Худяков А.Н., Соломина О.Н., Хлыбова С.В., Дмитриева С.Л., Попова В.С.*  
**РОЛЬ НЕЙТРОФИЛОВ ПРИ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОМ ТЕЧЕНИИ БЕРЕМЕННОСТИ,  
РОДОВ И РЯДЕ АКУШЕРСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ**

ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Казань, Российская Федерация;

ГБОУ ВПО «Вятский государственный гуманитарный университет» Минобрнауки России, г. Киров, Российская Федерация;

ГБОУ ВПО «Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Екатеринбург, Российская Федерация;

ФГБУН «Институт физиологии Коми НЦ УрО РАН» ФАНО России, г. Сыктывкар, Российская Федерация;

ГБОУ ВПО «Кировская государственная медицинская академия» Минздрава России, г. Киров, Российская Федерация;

КОГБУЗ «Кировский областной клинический перинатальный центр» Минздрава Кировской области, г. Киров, Российская Федерация

**Резюме.** Представлены данные литературы и результаты исследований авторов статьи, касающиеся функциональной активности нейтрофилов (ФАН) как общей способности этих клеток проявлять свою защитную функцию путем активации различных механизмов у беременных и рожаящих женщин, а также о роли нейтрофилов в регуляции сократительной деятельности матки (СДМ) и состояния шейки матки. Сообщается о повышении при беременности в крови матери лейкоцитов, абсолютного и относительного содержания нейтрофилов, которое сохраняется и в родах. Вместе с данными о повышении ФАН (рост продукции цитокина IL-8, повышение способности к фагоцитозу, повышение продукции активных форм кислорода, увеличение интенсивности окислительного взрыва, рост перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности, повышение содержания в гранулах лизосомальных катионных белков), это свидетельствует о том, что нейтрофилы совместно с моноцитами играют важную роль в неспецифическом иммунитете матери и плода и, вероятно, име-

ют отношение к регуляции СДМ. Этому способствуют прогестерон и эстрогены, так как в условиях *in vitro* они повышают ФАН у беременных женщин, взаимодействуя, скорее всего, с ядерными и мембранными рецепторами нейтрофилов. Накануне родов повышается ФАН, т.е. реализуется прайминг к завершению беременности, и это индуцирует родовую деятельность, но, вероятнее всего, не имеет отношения к созреванию шейки матки. Прогестерон и эстрогены способствуют этой активации (вероятно, с участием мембранных рецепторов). Авторами статьи показано, что, при угрозе преждевременных родов ФАН ниже, чем при физиологическом течении беременности. Предложена гипотеза, согласно которой уменьшение неспецифического иммунитета способствует развитию локального воспаления, следствием чего могут быть преждевременные роды. Сообщается, что при преэклампсии имеет место избыточная ФАН. Авторы заключают, что разработка методов, регулирующих ФАН, — этот путь к созданию новых способов профилактики преждевременных родов и преэклампсии.