

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПЕРОРАЛЬНОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ КАРРАГИНАН НА УРОВЕНЬ КАРБОНИЛИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

Харьковский национальный медицинский университет (г. Харьков)

vasilevaira@ukr.net

Результаты, представленные в статье, получены в ходе проведения НИР «Вивчення віддалених наслідків регулярного споживання харчових продуктів, що містять генетично модифіковані організми, в умовах пошкодження епітеліального бар'єру шлунково-кишкового тракту» (№ государственной регистрации 0110 U000653).

Вступление. Карбонилирование белков представляет собой необратимый процесс окислительного повреждения белков, который часто приводит к потере их функций. Данный показатель широко используется для оценки тяжести окислительного повреждения клеток и тканей при различной патологии [5]. Известно, что умеренно карбонилированные белки расщепляются под действием протеосомальной системы. В то же время, значительно карбонилированные белки имеют тенденцию к образованию агрегатов с высокой молекулярной массой, которые устойчивы к деградации и способны накапливаться в клетках [5]. Однако, в последние годы накопились данные о роли карбонилированных белков в опосредовании влияния активных форм кислорода (АФК) на метаболические процессы [9]. Тем не менее, вклад окислительной модификации белков в патогенез различных заболеваний подлежит уточнению. Известно, что длительное пероральное употребление пищевой добавки каррагинан приводит к развитию гастроэнтероколита [1,6,8]. Однако, механизм развития данной патологии изучен недостаточно, возможно одним из ключевых его звеньев является образование карбонилированных белков.

Целью исследования являлось изучение активности процессов окислительной модификации белков (ОМБ) и сигнальной роли карбонилированных белков при длительном пероральном употреблении пищевой добавки каррагинан.

Объект и методы исследования. В эксперименте были использованы 30 крыс популяции, которые содержались в стандартных условиях вивария. Содержание животных и манипуляции над ними проводили в соответствии с положениями Европейской конвенции «О защите позво-

ночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986). Согласно условиям эксперимента, животные были разделены на три группы. Первая группа включала 10 особей, употреблявших 1% раствор каррагинана перорально в течение 2 недель. Вторая группа состояла из 10 животных, принимавших 1% раствор пищевой добавки каррагинан в течение 4 недель. Третья группа (контрольная) состояла из интактных лабораторных животных. Употребление каррагинана приводило к развитию хронического гастроэнтероколита, подтвержденного морфологически [4].

Продукты ОМБ определяли по методу Е.Е. Дубининой и соавт. [2], который предусматривал регистрацию 2,4-динитрофенилгидразонов основного и нейтрального характера в сыворотке крови. Уровень эндотелина-1 в гомогенате тонкого кишечника определяли иммуноферментным методом с помощью набора реактивов фирмы Amersham (Великобритания). Для приготовления гомогената фрагменты тонкого кишечника в замороженном виде измельчали до порошкообразного состояния. Гомогенат готовили в 0,25 М трис-НСl, содержащем 0,32 М сахарозы. Гомогенат центрифугировали и использовали супернатант для исследования.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы GraphPad Prism 5.

Результаты исследований и их обсуждение. В результате проведенного исследования установлено достоверное повышение продуктов ОМБ в сыворотке крови животных, употреблявших пищевую добавку каррагинан. Более выраженное повышение уровня карбонилированных белков наблюдалось

Таблица.

Уровень карбонилированных белков в сыворотки крови и эндотелина-1 в гомогенате тонкого кишечника лабораторных животных ($M \pm m$)

Показатель	Контрольная группа	Двухнедельное пероральное употребление каррагинана	Четырехнедельное пероральное употребление каррагинана
	n=10	n=10	n=10
Карбонилированные белки, мкмоль/л	0,21±0,002	0,81±0,04 p<0,0001	0,62±0,04 p<0,0001
Эндотелин-1, пкг/г белка	2,34±0,27	4,17±0,31 p<0,001	6,72±0,07 p<0,001

при двухнедельном употреблении пищевой добавки каррагинан (практически четырехкратное увеличение, по сравнению с контрольной группой), в то время как четырехнедельное употребление каррагинана приводило к трехкратному увеличению концентрации продуктов ОМБ (табл.).

Известно, что карбонилированные белки образуются под действием активных форм кислорода и продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) [7]. В наших более ранних работах установлена активация процессов ПОЛ при хроническом каррагинан-индуцированном гастроэнтероколите [3]. Таким образом, накопление продуктов ОМБ при приеме животными каррагинана может быть обусловлено активацией ПОЛ, а также непосредственным стимулирующим влиянием каррагинана на генерацию АФК.

В то же время, некоторые авторы указывают на роль процессов карбонилирования белков в передаче сигналов от активных форм кислорода [9]. Результаты Wong C.M. et al. демонстрируют, что эндотелин-1 может индуцировать процессы ОМБ.

При исследовании уровня эндотелина-1 в гомогенате тонкого кишечника животных первой и второй групп установлено повышение концентрации данного сосудосуживающего пептида, соответственно, в 1,8 и 2,9 раз (табл.).

Таким образом, мы предположили, что эндотелин-1 может вносить вклад в карбонилирование

белков при каррагинан-индуцированном гастроэнтероколите.

Одним из потенциальных белков-мишеней эндотелин-зависимого карбонилирования может служить аннексин А1 [9]. Принимая во внимание вовлеченность аннексина А1 в процессы ингибирования пролиферации клеток, его инактивация путем эндотелин-индуцированного карбонилирования может приводить к активации процессов пролиферации. Подобное предположение подтверждается обнаруженным увеличением экспрессии Ki-67 в энтероцитах животных с каррагинан-индуцированным гастроэнтероколитом [6], что указывает на активацию процессов пролиферации.

Выводы

1. Длительный пероральный прием пищевой добавки каррагинан приводит к активации карбонилирования белков. При этом одним из потенциальных индукторов процессов ОМБ может служить эндотелин-1.

2. Эндотелин-зависимое карбонилирование белков может стимулировать процессы пролиферации, действуя опосредованно через аннексин А1.

Перспективы дальнейших исследований.

Полученные данные обосновывают перспективу дальнейших исследований, направленных на изучение особенностей патогенеза каррагинан-индуцированного воспаления, в частности, определения уровня аннексина А1.

Литература

1. Губина-Вакулик Г.А. Морфологическое состояние тонкого кишечника при длительном употреблении пищевой добавки каррагинан / Г.А. Губина-Вакулик, А.С. Ткаченко, М.А. Орлова // Вісник проблем біології і медицини. – 2014. – Т. 3 (109), Вип. 2. – С. 252-256.
2. Дубинина Е.Е. Окислительная модификация белков плазмы крови больных психиатрическими расстройствами (депрессия, деперсонализация) / Е.Е. Дубинина, М.Г. Морозова, Р.В. Леонова [и др.] // Вопр. мед. химии. — 2000. — Т. 46, № 4. — С. 398-409.
3. Жуков В.И. Система перекисного окисления липидов и активность апоптоза при экспериментальном хроническом гастроэнтероколите / В.И. Жуков, А.С. Ткаченко // Научные ведомости Белгородского университета. Медицина. Фармация (Российская Федерация). – 2013. – № 18 (161), Вип. 23. – С. 138-141.
4. Пат. 97322 Україна, МПК G09B 23/28. Спосіб моделювання хронічного гастроентероколіту / Іваненко Т.О., Коробчанський В.О., Губіна-Вакулик Г.І., Горбач Т.В., Колоусова Н.Г.; заявник Харківський національний медичний університет. – № заяв. а201014510 від 06.12.2010; опубл. 25.01.2012, Бюл. № 2.
5. Dalle-Donne I. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression / I. Dalle-Donne, G. Aldini, M. Carini M. [et al.] // J. Cell. Mol. – 2006. – Vol. 2. – P. 389-406.
6. Gubina-Vakyulyk G.I. Damage and regeneration of small intestinal enterocytes under the influence of carrageenan induces chronic enteritis / G.I. Gubina-Vakyulyk, T.V. Gorbach, A.S. Tkachenko [et al.] // Comparative Clinical Pathology. – 2015. – Vol. 24 (6). – P. 1473-1477.
7. Madian A.G. Proteomic identification of carbonylated proteins and their oxidation sites / A.G. Madian, F.E. Regnier // J. Proteome. Res. – 2010. – Vol. 6; 9 (8). – P. 3766-3780.
8. Pricolo V.E. Effects of lambda-carrageenan induced experimental enterocolitis on splenocyte function and nitric oxide production / V.E. Pricolo, S.M. Madhere, S.D. Finkelstein // J. Surg. Res. – 1996. – Vol. 66, № 1. – P. 6-11.
9. Wong C.M. Cell signaling by protein carbonylation and decarbonylation / C.M. Wong, L. Marcocci, L. Liu [et al.] // Antioxid. Redox Signal. – 2010. – Vol. 12 (3). – P. 393-404.

УДК 577.114.4:577.122:57.084

ВПЛИВ ТРИВАЛОГО ПЕРОРАЛЬНОГО ВЖИВАННЯ ХАРЧОВОЇ ДОБАВКИ КАРАГЕНАН НА РІВЕНЬ КАРБОНІЛОВАНИХ БІЛКІВ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ЩУРІВ

Ткаченко А. С., Мартинова С. М., Васильєва І. М.,
Ткаченко М. О.

Резюме. В експерименті вивчено вплив тривалого перорального вживання харчової добавки карагенан на стан процесів окисної модифікації білків і рівень ендотеліну-1 у гомогенаті тонкого кишечника тварин. Встановлено, що прийом карагенану супроводжується активацією карбонілювання білків і збільшенням

вмісту ендотеліну-1. Висунуто припущення, що ендотелін-1 може брати участь у процесах окисної модифікації білків. Зокрема, активна проліферація ентероцитів при тривалому вживанні карагенану може бути обумовлена ендотелін-залежною інактивацією аннексину A1.

Ключові слова: гастроентероколіт, карагенан, карбонильовані білки, ендотелін-1, щури.

УДК 577.114.4:577.122:57.084

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПЕРОРАЛЬНОГО УПОТРЕБЛЕНИЯ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ КАРРАГИНАНА НА УРОВЕНЬ КАРБЕНИЛИРОВАННЫХ БЕЛКОВ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ КРЫС

Ткаченко А. С., Мартынова С. Н., Васильева И. М.,

Ткаченко М. А.

Резюме. В эксперименте изучено влияние длительного перорального употребления пищевой добавки каррагинан на состояние процессов окислительной модификации белков и уровень эндотелина-1 в гомогенате тонкого кишечника животных. Установлено, что прием каррагинана сопровождается активацией карбонилирования белков и увеличением содержания эндотелина-1. Выдвинуто предположение, что эндотелин-1 может принимать участие в процессах окислительной модификации белков. В частности, активная пролиферация энтероцитов при длительном употреблении каррагинана может быть обусловлена эндотелин-зависимой инактивацией аннексина A1.

Ключевые слова: гастроэнтероколит, каррагинан, карбонилированные белки, эндотелин-1, крысы.

UDC 577.114.4:577.122:57.084

EFFECTS OF LONG-TERM ORAL CARRAGEENAN CONSUMPTION ON BLOOD SERUM CARBONYLATED PROTEINS LEVELS IN RATS

Tkachenko A. S., Martynova S. M., Vasylieva I. M., Tkachenko M. A.

Abstract. Protein carbonylation is an irreversible oxidative protein damage that results in loss of their functions. This parameter has been widely used to assess the severity of oxidative damage to cells and tissues in different kinds of pathological processes. It has been known that moderately carbonylated proteins are cleaved by the proteasomal system. At the same time significantly carbonylated proteins tend to form stable high-molecular-weight aggregates that can be accumulated in cells. However, it has been reported that carbonylated proteins take part in reactive oxygen species signaling. Therefore, the contribution of protein oxidative modification to pathogenesis of various diseases is yet to be elucidated. The food additive carrageenan has drawn our attention. It has been known that the long-term oral consumption of carrageenan leads to the development of chronic gastroenterocolitis.

The aim of the research was to study the rate of protein oxidative modification and the signaling role of carbonylated proteins in long-term oral consumption of the food additive carrageenan.

The Wistar rats were used for the experiment. They were subdivided into three groups. The animals from the first group orally consumed carrageenan during two weeks. The rats from the second group consumed carrageenan during four weeks. The third group consisted of intact animals. Carbonylated protein levels were measured spectrophotometrically in blood serum. Endothelin-1 levels in the intestinal homogenate were determined by ELISA.

The oral consumption of carrageenan was associated with an increase in both carbonylated proteins and endothelin-1 concentrations. The activation of protein oxidative modification may be due to overproduction of reactive oxygen species and products of lipid peroxidation.

We suggest that endothelin-1 may be involved in the process of protein oxidative modification. In particular, active proliferation of enterocytes in long-term consumption of carrageenan may be caused by endothelin-dependent inactivation of annexin A1, which participates in regulation of cell proliferation.

Keywords: gastroenterocolitis, carrageenan, carbonylated proteins, endothelin-1, rats.

Рецензент — проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 23.09.2016 року