

## ВЛИЯНИЕ РОСТА АСЦИТНОЙ ГЕПАТОМЫ ЗАЙДЕЛЯ НА СОСТОЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ОПУХОЛЕНОСИТЕЛЯ

© М. М. Поцелуева,<sup>1, 2</sup> А. А. Наумов,<sup>1, 2</sup> Т. К. Сухомлин,<sup>1</sup>  
Г. Г. Зинатуллина,<sup>1, 2</sup> Ю. В. Шаталин<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Институт теоретической и экспериментальной биофизики РАН, Пущино,  
и <sup>2</sup> Пущинский государственный естественно-научный институт;  
электронный адрес: mpotselueva@rambler.ru

В работе было исследовано влияние роста опухоли на состояние антиоксидантной системы в плазме крови и в зоне роста опухоли. В качестве модельной системы опухолевого роста была использована асцитная гепатома Зайделя, трансплантированная в брюшную полость крыс линии Вистар. Было установлено, что развитие опухоли вызывает дисбаланс между про- и антиоксидантными системами в организме опухоленосителя. Причем в плазме установлено резкое падение концентрации токоферола, мочевой кислоты (в 2 раза), а также белковых SH-групп (в 7 раз). В зоне роста опухоли наряду с уменьшением уровня токоферола отмечено 5—7-кратное увеличение концентрации мочевой кислоты и белковых SH-групп. По мере уменьшения концентрации низкомолекулярных антиоксидантов главную роль приобретают белковые компоненты, которые связывают или окисляют ионы металлов переменной валентности. Так, уровень трансферрина (Тф), отвечающего за транспорт ионов железа в плазме крови в процессе развития опухоли, снижается в 2.5—3 раза (от 5.0 до 1.6 мг/мг), тогда как в асцитической жидкости наблюдается рост уровня Тф от 1.5 до 2.7 мг/мг. Динамика концентрации другого белка, функционирующего совместно с Тф — церулоплазмина (Цп), имеет противоположные тенденции. Так, в плазме крови концентрация Цп возрастает в 1.5—2 раза (от 0.55 до 1.1 мг/мг), в то время как в асците она снижается с 0.55 до 0.35 мг/мг.

**Ключевые слова:** низкомолекулярные антиоксиданты, белки антиоксидантной системы, окислительный стресс, гепатома Зайделя, опухолевый рост.

**Принятые сокращения:** АОЗ — антиоксидантная защита, АОС — антиоксидантная система, АФК — активные формы кислорода, ДТНБ — 5,5'-дитио-бис-2-нитробензойная кислота, СОД — супероксиддисмутаза, Тф — трансферрин, Цп — церулоплазмин.

Продукция активных форм кислорода (АФК) является обязательным атрибутом функционирования клеток в кислородсодержащей среде. Согласно подсчетам Б. Холливелла, в организме человека в год образуется в среднем до 2 кг супероксиданион-радикала (Halliwell, 1994). При различных патологиях, таких как пневмония, артроз, астма, сердечно-сосудистые заболевания и др., продукция АФК фагоцитами возрастает во много раз (Barbour et al., 1984; Meske et al., 1985; Zimmeermann et al., 1990; Inoue et al., 1999). В экспериментальных модельных системах также отмечено возрастание численности и АФК-генерирующей активности фагоцитов в плазме крови опухоленосителя (Шаталин и др., 2010). При различных патологических состояниях, сопровождающихся развитием окислительного стресса, необходимы эффективные механизмы защиты организма от повреждающего действия АФК. Такой системой, противостоящей повреждающему эффекту свободных радикалов, является антиоксидантная система (АОС). По локализации антиоксидантные механизмы защиты организма можно разделить на два типа — внутри- и внеклеточные антиоксиданты. Семейство внеклеточных антиоксидантов составляют как низ-

комолекулярные (аскорбиновая кислота, мочевая кислота, билирубин, экстрацеллюлярная супероксиддисмутаза (СОД) и SH-группы белков), так и высокомолекулярные вещества (церулоплазмин и трансферрин). Представителями внутриклеточных антиоксидантов являются глутатион,  $\alpha$ -токоферол, Zn/Mg-СОД, каталаза, глутатионпероксидаза, ферритин и некоторые другие. Нарушение окислительно-восстановительного баланса внутри клетки может быть вызвано рядом причин, таких как воздействие внеклеточных прооксидантов (пероксида водорода и оксида азота), апоптотических факторов, повреждения в дыхательной цепи.

При изучении экспериментальной модели роста опухоли в организме животного на примере развития трансплантированной гепатомы Зайделя было подробно исследовано состояние прооксидантной системы (Поцелуева и др., 1999). Было показано увеличение АФК-генерирующей активности фагоцитов, их численности и уровня АФК в плазме (Potselueva et al., 2007). Развивающийся в плазме окислительный стресс как неспецифическая иммунная реакция защиты может принимать угрожающий характер и характеризоваться повреждением мембран

здоровых клеток организма, образованием токсичных продуктов перекисного окисления (диеновых конъюгатов и малонового диальдегида).

Развитию окислительного стресса противостоит антиоксидантная система. Ее состояние в процессе развития опухоли в данной экспериментальной модели не было исследовано. В связи с этим целью настоящей работы являлось исследование динамических изменений в концентрации низко- и высокомолекулярных антиоксидантов в плазме и в асцитической жидкости.

### Материал и методика

Реактивы: D-глюкоза, акриламид и бисакриламид (AppliChem, Германия); люминол, кумасси R250 и Трис-НСI (Диа-М, Россия); 5,5'-дитио-бис-2-нитробензойная кислота (ДТНБ, Fluka, США); гепарин (Спофа, Чехия);  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  и  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  (Panreac, Испания); NaCl и персульфат аммония (Реахим, Россия); набор для определения мочевой кислоты (Callegari, Италия); иммуноферментные наборы для определения трансферрина и церулоплазмينا (АРТЕС, Германия).

Животные. В экспериментах использовали крыс-самцов линии Вистар массой 200—220 г. Крыс содержали в условиях вивария на стандартном рационе при свободном доступе к воде и пище, при 16—20 °С в режиме естественной освещенности.

Для трансплантации опухоли использовали клетки асцитной гепатомы Зайделя, собираемой у крыс-опухоленосителей на 5-е сут развития опухоли. Гепатому Зайделя прививали крысам внутривенно в объеме 0.8 мл (около  $10^7$  кл./мл). Среднее время жизни животных с трансплантированной опухолью составляло 12—14 сут.

Приготовление плазмы крови. Отбор крови осуществляли посредством декапитации. В качестве антикоагулянта при выделении плазмы использовали гепарин из расчета 100 мкл раствора гепарина с 5000 МЕ/мл на 5—7 мл крови. Гепаринизированную кровь центрифугировали в течение 10 мин при 400 г. После центрифугирования плазму осторожно собирали пипеткой или шприцем и переносили в стерильные пластиковые пробирки. До проведения измерений образцы плазмы хранили при  $-27$  °С.

Приготовление бесклеточной асцитической жидкости. Отобранную асцитическую жидкость центрифугировали в течение 10 мин при 400 г. После центрифугирования жидкость осторожно переносили в пластиковые пробирки. До проведения измерений образцы асцитической жидкости хранили при  $-27$  °С.

Концентрацию  $\alpha$ -токоферола определяли спектрофотометрическим методом (Архипова, 1988; Esterbauer et al., 1989), предварительно экстрагировав его из плазмы крови или асцитической жидкости гептаном. Поглощение  $\alpha$ -токоферола в гептановых экстрактах регистрировали при длине волны 232 нм ( $\epsilon = 22\,000 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ).

Содержание тиолов определяли спектрофотометрически. Для этого к плазме крови или асцитической жидкости добавляли раствор ДТНБ (0.025 мг/мл) в соотношении 1 : 25 и 30 мин инкубировали в темноте при комнатной температуре. Затем измеряли оптическую плотность проб при длине волны 412 нм. Расчет концентрации тиоловых групп производили с учетом коэффициента молярной экстинкции  $13 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

Концентрацию мочевой кислоты в плазме крови и асцитической жидкости определяли традиционным уриказным методом. Для анализа использовали стандартный набор для определения мочевой кислоты, содержащей уриказу, 4-аминоантипирин и 2,4,6-трибром-3-оксибензойную кислоту, образующие в присутствии мочевой кислоты окрашенное соединение. Измерение поглощения образцов проводили при длине волны 520 нм и далее концентрацию рассчитывали с помощью калибровочной кривой с использованием стандартных растворов мочевой кислоты.

Концентрацию альбумина определяли денситометрическим анализом электрофорограмм белков плазмы крови и асцита, окрашенных кумасси R250, с использованием программного пакета TotalLab 2003. Для этого в градиенте полиакриламидного геля 10—20 % разделяли по 20 мкл солнобилизованных образцов плазмы крови и асцитической жидкости, белки в геле фиксировали 15%-ным раствором ТХУ, окрашивали в течение 30 мин кумасси R250 и фон отмывали 7%-ной уксусной кислотой. Затем гель сканировали и анализировали в программе TotalLab 2003, оценивая концентрацию альбумина по маркерным белкам (с мол. массой 65 кДа).

Концентрации трансферрина и церулоплазмина определяли с помощью иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов.

### Результаты и обсуждение

Ранее авторами было показано (Шаталин и др., 2010), что при развитии асцитной опухоли в плазме крови опухоленосителя в 3.5—5 раз повышается уровень АФК и появляются метаболиты окислительного стресса, характеризующие уровень перекисного окисления липидов. В зоне роста опухоли создаются противоположные условия — гипоксия, ведущая к ацидозу и понижению уровня АФК. Возникает вопрос: как эти процессы влияют на состояние внеклеточной антиоксидантной системы плазмы и асцита?

Основной вклад в реализацию антиоксидантной защиты плазмы крови играют низкомолекулярные компоненты, тогда как на долю высокомолекулярных антиоксидантов приходится 10—40 % от общего антиоксидантного статуса плазмы крови (Wayner et al., 1985, 1987). Вклад низкомолекулярной составляющей плазмы крови в ее антиоксидантный статус представлен следующими соотношениями: мочевая кислота — 35—65 %, аскорбат — 24 %,  $\alpha$ -токоферол — 5—10 % (Wayner et al., 1987). При этом среднее содержание мочевой кислоты в плазме крови превышает количество аскорбата в 5—10 раз (Diplock, 1994).

В зависимости от условий одни и те же компоненты плазмы крови могут являться как антиоксидантами, так и прооксидантами. Необходимо подчеркнуть, что многие компоненты, обладающие антиоксидантными свойствами, имеют больше чем один механизм действия. Например, мочевая кислота не только убирает АФК, но и прерывает ветвление свободнорадикальной цепи и связывает ионы железа (Davies et al., 1986).

При развитии опухоли в экспериментальной модели рака (гепатома Зайделя) концентрация мочевой кислоты и  $\alpha$ -токоферола в крови опухоленосителя снижалась на  $40.7 \pm 0.5$  (рис. 1, кривая 1) и  $54 \pm 5$  (рис. 1, кривая 2) % соответственно.

Подобные изменения зарегистрированы при заболеваниях, сопровождающихся окислительным стрессом (Vural et al., 1999; Schmidt et al., 2004). С другой стороны, в зоне роста опухоли на фоне снижающегося уровня  $\alpha$ -токоферола на  $50 \pm 10\%$  (рис. 2, кривая 1) обнаружено накопление мочевой кислоты на  $600 \pm 40\%$  (рис. 2, кривая 2). Данный факт может быть обусловлен как распадом опухолевых клеток, так и активацией работы ксантиноксидазы (Rampello et al., 2006; Jeddi et al., 2007), а также повышенным синтезом и деградацией пуриновых оснований в опухолевых клетках (Ullman et al., 1982; Jones et al., 1990).

Эксперименты показали, что концентрация SH-содержащих низкомолекулярных соединений (глутатион, цистеин и др.) практически не изменяется в процессе роста опухоли, постоянно оставаясь на низком уровне  $\sim 2.3\text{--}2.8$  мкМ как в плазме крови, так и в асците.

По мере уменьшения концентрации низкомолекулярных антиоксидантов в крови и асците главную роль приобретают высокомолекулярные компоненты АОЗ. Такой составляющей АОЗ являются белковые антиоксиданты (альбумин, трансферрин, церулоплазмин, гаптоглобин и др.) и SH-группы белков.

Антиоксиданты белковой природы можно подразделить на две группы: белки, непосредственно реагирующие с АФК, и регуляторные белки, которые, например, связывают или окисляют ионы свободного (хелатированного) железа и других металлов переменной валентности. Первая группа белковых антиоксидантов, реагирующих непосредственно с АФК, разнообразна (СОД, каталаза, пероксидазы и пероксиредоксины), хотя внеклеточных белков данного типа мало (эСОД и SH-группы белков). Основную роль в защите от АФК во внеклеточной среде отдают альбумину, точнее его SH-группам (Янковский, 2000).

При исследовании динамики концентрации альбумина было установлено, что в начальной фазе развития опухоли наблюдается существенное снижение его концентрации ( $\sim 23 \pm 5\%$ ) в плазме крови (рис. 3, кривая 1), частично нормализующееся к терминальной фазе. В асците же, напротив, концентрация альбумина (рис. 3, кривая 2) увеличивается с первых суток развития опухоли, достигая максимального значения к 4–6 сут (прирост  $\sim 24 \pm 5\%$ ) и в дальнейшем незначительно снижается. Изменение содержания альбумина в плазме и асците, по-видимому, связано с процессом ангиогенеза и с увеличением проницаемости сосудов в околоопухолевом окружении.

Изменение концентрации белковых SH-групп может являться результатом окисленности—восстановленности альбумина и среды в целом (Van der Vlie et al., 1994), что было подтверждено в экспериментах по изучению действия перекиси водорода на состояние цистеиновых остатков альбумина плазмы крови (Radi et al., 1991).

Снижение в плазме крови белковых SH-групп (рис. 4, кривая 1) на  $87 \pm 9\%$  к терминальной фазе развития опухоли подтверждает высокий уровень окислительного стресса в крови. В асците же первая фаза опухолевого роста характеризуется некоторым ростом уровня активных форм кислорода, что приводит к уменьшению белковых SH-групп (рис. 4, кривая 2) в этот период (29% от значений, соответствующих плазме крови здорового животного). Дальнейшее развитие опухоли сопровождается гипоксией, низким уровнем АФК и 6-кратным возрастанием концентрации белковых SH-групп в асците.

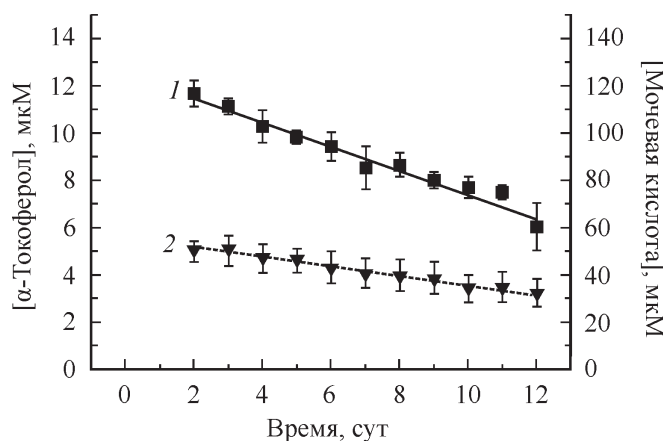


Рис. 1. Изменение концентрации  $\alpha$ -токоферола (кривая 1) и мочевой кислоты (кривая 2) в крови животного с трансплантированной гепатомой Зайделя ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0.05$ ).

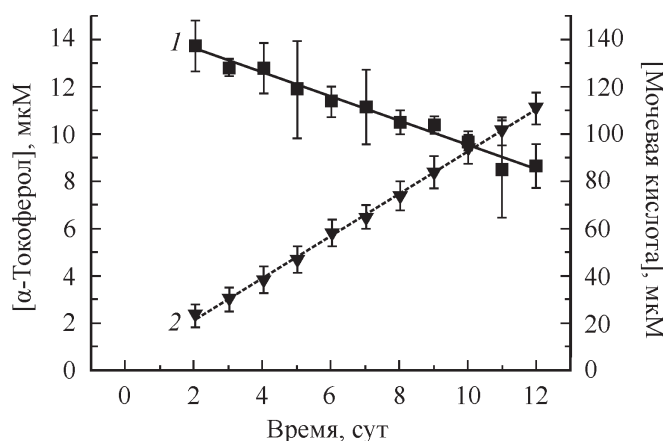


Рис. 2. Изменение концентрации  $\alpha$ -токоферола (кривая 1) и мочевой кислоты (кривая 2) в асцитической жидкости животного с трансплантированной гепатомой Зайделя ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0.05$ ).

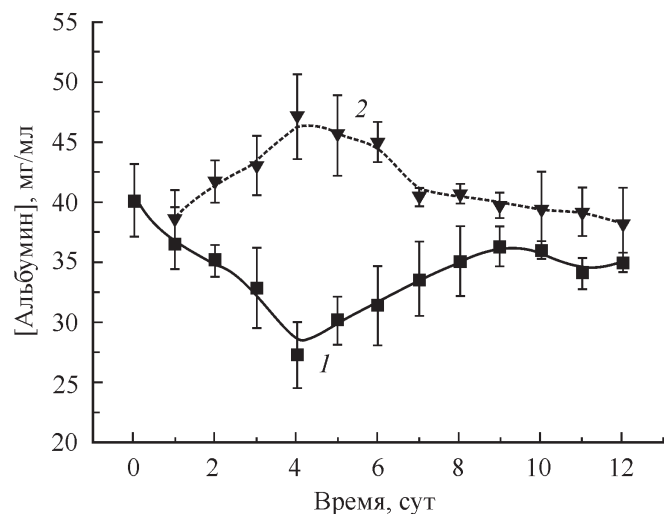


Рис. 3. Изменение концентрации альбумина в плазме крови (кривая 1) и в асцитической жидкости (кривая 2) животного с трансплантированной гепатомой Зайделя ( $M \pm m$ ,  $n = 7$ ,  $P < 0.05$ ).

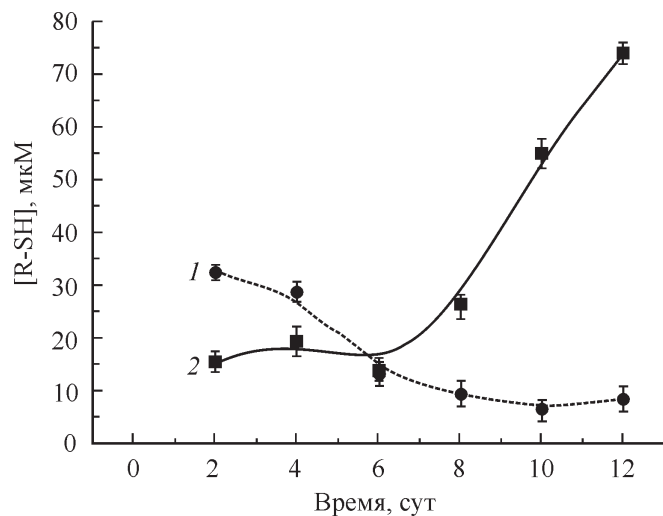


Рис. 4. Изменение концентрации тиоловых групп белков в плазме крови (кривая 1) и асцитической жидкости (кривая 2) животного с трансплантированной гепатомой Зайделя ( $M \pm m$ ,  $n = 8$ ,  $P < 0.05$ ).

Во вторую группу антиоксидантов входят такие белки, как церулоплазмин, трансферрин, ферритин, гаптоглобин, гемопексин и некоторые другие. Считается, что в плазме крови церулоплазмин (Цп) совместно с трансферрином (Тф) образуют антиоксидантную систему, регулирующую концентрацию восстановленных ионов железа (Владимиров, 1999). Суммарная антиокислительная активность сыворотки в отношении  $Fe^{2+}$ -индуцированного перекисного окисления компонентов плазмы и клеточных мембран в основном определяется содержанием в ней этих белков. Основная роль Тф и Цп в антиоксидантной защите организма — торможение железоиндуцированного перекисного окисления компонентов внеклеточного окружения, которое осуществляется благодаря оксидазной активности Цп и железосвязывающей способности Тф.

На рис. 5 (кривая 1), показано, что уровень Тф в плазме крови животных в процессе развития опухоли снижа-

ется в 2.5—3 раза (от 5.0 до 1.6 мг/мл), тогда как в асцитической жидкости наблюдается рост уровня Тф от 1.5 до 2.7 мг/мл (рис. 5, кривая 2). Необходимо отметить, что количество Тф в асците к 8—9 сут развития опухоли составляет примерно 250 мг, тогда как в крови его количество не превышает 100 мг.

Снижение концентрации Тф в крови может быть обусловлено различными факторами. Вследствие того, что основное увеличение объема асцитической жидкости наблюдается, начиная с 4 сут, резкий спад Тф в плазме, возможно, обусловлен его перераспределением между плазмой и асцитом. Другой причиной может быть активация захвата трансферрина клетками крови посредством трансферриновых рецепторов — TR (Toshie Kanayasu-Toyoda et al., 1999). Увеличение уровня экспрессии TR может приводить к снижению концентрации Тф в плазме крови, например при созревании моноцитов в макрофаги (Testa et al., 1989).

Обнаруженное в настоящей работе возрастание концентрации Тф (рис. 5, кривая 2) в асците напрямую коррелирует ( $r = 0.871$ ) с изменением концентрации опухолевых клеток и, по-видимому, отражает равновесный процесс захвата Тф. Динамика изменения концентрации другого белка, функционирующего совместно с трансферрином, — церулоплазмينا — имеет противоположные тенденции. Так, в плазме крови концентрация Цп (рис. 6, кривая 1) возрастает в 1.5—2 раза (от 0.55 до 1.1 мг/мл), в то время как в асците (рис. 6, кривая 2) она снижается с 0.55 до 0.35 мг/мл. Увеличение концентрации Цп в плазме крови, возможно, является следствием активации его экспрессии интерлейкином IL-6 (Conley et al., 2005).

Снижение концентрации Цп в асците, по-видимому, является результатом увеличения объема асцита, а также результатом захвата Цп из внеклеточного окружения опухолевыми клетками, которым для нормального функционирования необходимы ионы меди. Необходимо отметить, что количество Цп к 8 сут возрастает до 40 мг в асцитической жидкости и до 30 мг в крови. Таким образом, исходя из того, что плазменный Цп содержит примерно 5 % всей меди в организме (Linder, Hazegh-Azam, 1996), а

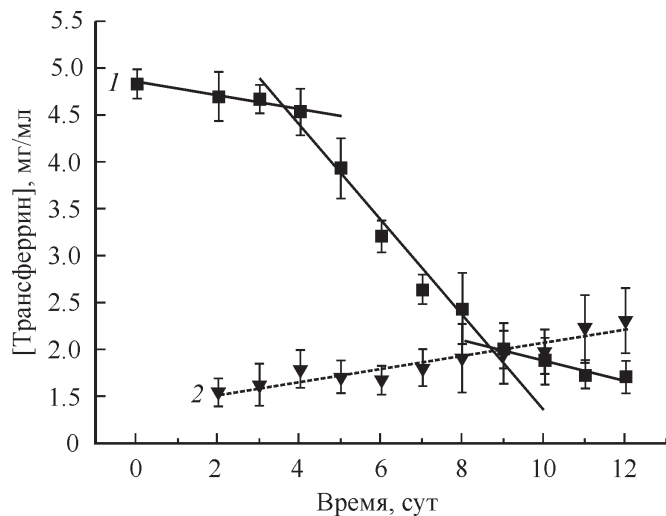


Рис. 5. Изменение концентрации трансферрина в плазме крови (кривая 1) и асцитической жидкости (кривая 2) животного с трансплантированной гепатомой Зайделя ( $M \pm m$ ,  $n = 11$ ,  $P < 0.05$ ).

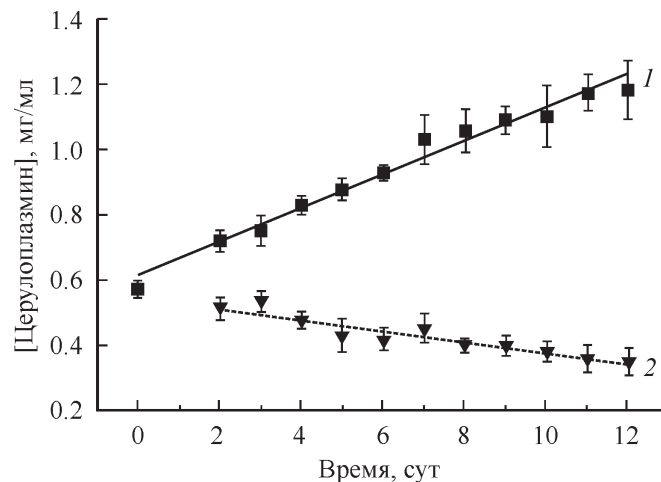


Рис. 6. Изменение концентрации церулоплазмينا в плазме крови (кривая 1) и асцитической жидкости (кривая 2) животного с трансплантированной гепатомой Зайделя ( $M \pm m$ ,  $n = 11$ ,  $P < 0.05$ ).

в процессе развития опухоли наблюдается увеличение суммарного количества Цп почти в 5 раз (в плазме и асците), это может приводить к дефициту меди в других тканях и вызывать нейродегенеративные расстройства (Vassiliev et al., 2005), развитие сердечной недостаточности (Elsherif et al., 2003) и ослабление антиоксидантной защиты клеток (Uriu-Adams, Keen, 2005).

Анализ полученных результатов позволяет заключить, что развитие асцитной гепатомы Зайделя в брюшной полости животного, вызывающее активацию АФК-генерирующей активности нейтрофилов плазмы крови, приводит к быстрому истощению аскорбата, частичному окислению мочевой кислоты и незначительно сказывается на изменении концентрации  $\alpha$ -токоферола. Эти факты говорят в пользу того, что антиоксидантная защита внеклеточного окружения реализуется ступенчато, начиная с низкомолекулярных антиоксидантов (аскорбиновая и мочевая кислоты,  $\alpha$ -токоферол), а затем подключаются остальные компоненты антиоксидантной системы (SH-группы белков, альбумин, трансферрин и церулоплазмин).

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (Соглашение 14.B37.21.1120).

#### Список литературы

- Архипова О. Г. (Ред.) 1988. Методы исследования в профпатологии. Руководство для врачей. М.: Медицина. 206 с.
- Владимиров Ю. А. 1999. Свободнорадикальные аспекты катарактогенеза. Вестн. РАМН. 2 : 22—26.
- Поцелуева М. М., Пустовидко А. В., Алабин В. С., Евтодченко Ю. В. 1999. Генерация реактивных форм кислорода полиморфоядерными лейкоцитами в процессе развития гепатомы Зайделя в брюшной полости животного. Цитология. 41 (2) : 162—166.
- Шаталин Ю. В., Наумов А. А., Поцелуева М. М. 2010. Изменение состава клеточных популяций и уровня активных форм кислорода в крови и в асцитной жидкости опухоленосителя. Цитология. 52 (2) : 131—135.
- Янковский О. Ю. 2000. Токсичность кислорода и биологические системы: эволюционные, экологические и медико-биологические аспекты. СПб.: Игра. 295 с.
- Conley L., Geurs T. L., Levin L. A. 2005. Transcriptional regulation of ceruloplasmin by an IL-6 response element pathway. Brain Res. Mol. Brain Res. 139 : 235—41.
- Davies K. J., Sevanian A., Muakkassah-Kelly S. F., Hochstein P. 1986. Uric acid-iron ion complexes. A new aspect of the antioxidant functions of uric acid. Biochem. J. 235 : 747—754.
- Diplock A. T. 1994. Antioxidants and disease prevention. Mol. Aspects Med. 15 : 293—376.
- Elsherif L., Ortines R. V., Saari J. T., Kang Y. J. 2003. Congestive heart failure in copper-deficient mice. Exp. Biol. Med. (Maywood). 228 : 811—7.
- Esterbauer H., Striegl G., Puhl H., Rotheneder M. 1989. Continuous monitoring of in vitro oxidation of human low density lipoprotein. Amer. J. Physiol. 258 : G185—G190.
- Halliwel B. 1994. Free radicals and antioxidants: a personal view. Nutr. Rev. 52 : 253—265.
- Inoue M., Fujii H., Kaseyama H., Yamashina I., Nakada H. 1999. Stimulation of macrophages by mucins through a macrophage scavenger receptor. Biochem. Biophys. Res. Commun. 264 : 276—280.
- Jeddi R., Ben Abdennebi Y., Allani B., Belakhal R., Aissaoui L., Ben Abid H., Ali Z. B., Meddeb B. 2007. Tumor lysis syndrome. Tunis Med. 85 : 174—176.
- Jones D. P., Stapleton F. B., Kalwinsky D., McKay C. P., Kellie S. J., Pui C. H. 1990. Renal dysfunction and hyperuricemia at presentation and relapse of acute lymphoblastic leukemia. Med. Pediatr. Oncol. 18 : 283—286.
- Kanayasu-Toyoda T., Yamaguchi T., Uchida E., Hayakawa T. 1999. Commitment of neutrophilic differentiation and proliferation of HL-60 cells coincides with expression of transferrin receptor. J. Biol. Chem. 274 : 25471—25480.
- Linder M. C., Hazegh-Azam M. 1996. Copper biochemistry and molecular biology. Amer. J. Clin. Nutrition. 63 : 797S—811S.
- Meske S., Maly F. E., Estefan M., Müller W. 1985. Liberation of the oxygen radical from peripheral human phagocytes (granulocytes and monocytes) in patients with chronic polyarthritis. Z. Rheumatol. 44 : 41—45.
- Potselueva M. M., Pustovidko A. V., Evtodienko Y. V. 2007. The Ca<sup>2+</sup>-regulation of ROS-generating activity by polymorphonuclear leukocytes during tumor growth in rats. Luminescence. 22 : 199—205.
- Radi R., Beckman J. S., Bush K. M., Freeman B. A. 1991. Peroxynitrite oxidation of sulfhydryls. The cytotoxic potential of superoxide and nitric oxide. J. Biol. Chem. 266 : 4244—4250.
- Rampello E., Fricia T., Malaguarnera M. 2006. The management of tumor lysis syndrome. Nat. Clin. Pract. Oncol. 3 : 438—447.
- Schmidt R., Luboinski T., Markart P., Ruppert C., Daum C., Grimminger F., Seeger W., Gunther A. 2004. Alveolar antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. Eur. Respir. J. 24 : 994—999.
- Testa U., Grignani F., Hassan H. J., Rogaia D., Masciulli R., Gelmetti V., Guerriero R., Macioce G., Liberatore C., Barberi T., Mariani G., Pelicci P. G., Peschle C. 1998. Terminal megakaryocytic differentiation of TF-1 cells is induced by phorbol esters and thrombopoietin and is blocked by expression of PML/RARalpha fusion protein. Leukemia. 12 : 563—570.
- Ullman B., Wormsted M. A., Cohen M. B., Martin D. W. 1982. Purine oversecretion in cultured murine lymphoma cells deficient in adenylosuccinate synthetase: genetic model for inherited hyperuricemia and gout. Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 79 : 5127—5131.
- Uriu-Adams J. Y., Keen C. L. 2005. Copper, oxidative stress, and human health. Mol. Aspects Med. 26 : 268—298.
- Van der Vliet A., Smith D., O'Neill C. A., Kaur H., Darley-Usmar V., Cross C. E., Halliwel B. 1994. Interactions of peroxynitrite with human plasma and its constituents: oxidative damage and antioxidant depletion. Biochem. J. 303 : 295—301.
- Vassiliev V., Harris Z. L., Zatta P. 2005. Ceruloplasmin in neurodegenerative diseases. Brain Res. Rev. 49 : 633—640.
- Vural P., Canbaz M., Selcuki D. 1999. Plasma antioxidant defense in actinic keratosis and basal cell carcinoma. J. Eur. Acad. Dermatol. Venereol. 13 : 96—101.
- Wayner D. D., Burton G. W., Ingold K. U., Locke S. 1985. Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. FEBS Lett. 187 : 33—37.
- Wayner D. D. M., Burton G. W., Ingold K. U., Barclay L. R., Locke S. J. 1987. The relative contributions of vitamin E, urate, ascorbate and proteins to the total peroxy radical-trapping antioxidant activity of human blood plasma. Biochim. biophys. acta. 924 : 408—419.
- Zimmerman B. J., Grisham M. B., Granger D. N. 1990. Role of oxidants in ischemia/reperfusion-induced granulocyte infiltration. Amer. J. Physiol. 258 : G185—G190.

## EFFECT OF ZAJDELA ASCITE HEPATOMA GROWTH ON THE EXTRACELLULAR ANTIOXIDANT SYSTEM OF TUMOR BEARER

*M. M. Potselueva,<sup>1,2</sup> A. A. Naumov,<sup>1,2</sup> T. K. Sukhomlin,<sup>1</sup> G. G. Zinatullina,<sup>2</sup> Yu. V. Shatalin<sup>1,2</sup>*

<sup>1</sup> Institute of Theoretical and Experimental Biophysics RAS, Pushchino,  
and <sup>2</sup> Pushchino State Institute of Natural Sciences;  
e-mail: mpotselueva@rambler.ru

The influence of tumor development on the blood plasma antioxidant system in the area of tumor growth has been studied. Zajdela ascite hepatoma transplanted to the abdominal cavity of Vistar rats was used as a model of tumor growth. It has been found that tumor development produced an imbalance between pro- and antioxidant systems in the organism of tumor bearer. Besides, a sharp decrease in tocopherol and uric acid concentrations (twice), as well as in the concentration of protein SH-groups (seven times) was noted. In the tumor growth area, along with the tocopherol level decrease, a 5–7 fold increase in the concentrations of uric acid and protein SH-groups was observed. As the concentration of low-molecular antioxidants decreases, the major part is played by protein components which bind or oxidize ions of variable valence. Thus, the level of transferrin (Tf), which is responsible for the transport of iron ions, is reduced in 2.5 to 3 times (from 5.0 to 1.6 mg/ml) in the blood plasma, whereas the Tf level in the ascitic fluid increased from 1.5 to 2.7 mg/ml. The concentration dynamics of the other protein functioning together with Tf, ceruloplasmin (Cp), had opposite (inverse) tendencies. Thus, the Cp concentration in the blood plasma increased 1.5–2 times (from 0.55 to 1.1 mg/ml) whereas it decreased from 0.55 mg/ml to 0.35 mg/ml in the ascites.

**Key words:** low molecular antioxidants, proteins of antioxidant system, oxidative stress, Zajdela hepatoma, tumor growth.

---