

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І.І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра біохімії

Д и п л о м н а р о б о т а

Бакалавра

на тему «**Активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в
органах щурів в нормі та при крововтраті**»

«The activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase in the organs of
rats in normal state and in the state of blood loss»

Виконала : студентка 3 курсу
заочної форми навчання
спеціальності
6.040102 Біологія
Римбу Лілія Іванівна

Керівник: к.біол.н., доц.
Чернадчук Сніжана Сергіївна

Рецензент: к.біол.н., доц.
Якуба Ірина Петрівна

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ 11 від «25» 03 2016 р.

Завідувач кафедри

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Захищено на засіданні ЕК № 2 _____
Протокол № 56 від «26» 04 2016 р.
Оцінка відмінно 90 1 A
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Голова ЕК

(підпис)

(прізвище та ініціали)

Одеса – 2016

АНОТАЦІЯ

Проведено дослідження активності деяких антиоксидантних ензимів, а саме глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази, в різних тканинах щурів в умовах гострої крововтрати.

В результаті роботи було виявлено, що в умовах анемії активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази знижується у всіх досліджуваних органах у середньому на 44 %.

Роботу викладено на 40 сторінках, вона містить 1 таблицю та 2 рисунка. Наведено посилання на 50 джерел літератури (41 кирилицею та 9 латиницею).

Ключові слова: *глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, гостра крововтрата*

We studied the activity of some antioxidant enzymes in different tissues of rats with acute hemorrhage.

As a result, it was found that in a iron deficiency anemia activity of glutathione peroxidase and glutathione reductase reduced in all organs studied an average of 44 %.

Diploma thesis is expounded on 40 pages, it contains 1 tables and 2 figures. It provides links to 50 references (41 cyrillic and 9 latinic).

Key words: *glutathione peroxidase, glutathione reductase, acute hemorrhage*

ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Класифікація і властивості активних форм кисню	8
1.2. Загальна характеристика перекисного окислення ліпідів	13
1.3. Загальна характеристика антиоксидантної системи.....	17
2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	21
2. 1. Матеріал дослідження.....	21
2. 2. Методи дослідження.....	21
2.2.1.Метод визначення активності глутатіонпероксидази	21
2.2.2. Метод визначення активності глутатіонредуктази	23
2. 3. Статистична обробка результатів дослідження.....	25
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ І ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	26
3.1. Активність антиоксидантних ензимів в тканинах щурів в умовах гострої крововтрати	26
УЗАГАЛЬНЕННЯ	33
ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	36

ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ

АОС - антиоксидантна система;

АФК - активні форми кисню;

ГПО- глутатіонпероксидаза;

ГР – глутатіонредуктаза;

ГК – гостра крововтрата;

ДК - дієнові кон'югати;

ПОЛ - перекисне окислення ліпідів;

СОД – супероксиддисмутаза.

ВСТУП

В даний час дослідження процесів, що відбуваються в організмі при гострій крововтраті набуває особливої актуальності. Це пов'язано як з численними пораненнями наших бійців в зоні АТО, так і з високим рівнем побутового та виробничого травматизму.

Сучасні медичні методи лікування таких хворих зводяться до крововідновленої терапії. При цьому не враховуються зміни біохімічних процесів в організмі, що мають місце при крововтраті.

Гостра крововтрата патофізіологічно супроводжується синдромом гіпоксії. Оскільки основною причиною останньої є недостатність киснево-транспортної функції крові, то гіпоксію розцінюють як гемічну [50]. Складний патогенез гіпоксичного синдрому на фоні гострої крововтрати, обумовлений на початковому етапі низьким вмістом сироваткового заліза і, як наслідок, недостатністю генерації еритроцитів, обумовлює дефіцит кисневого забезпечення організму. Як відомо, гіпоксичні стани супроводжуються на клітинному та субклітинному рівні комплексом біохімічних порушень, які полягають у порушенні енергетичного обміну - переходу метаболізму на більш стійкі гліколітичні шляхи [1, 2]. Як наслідок, з'являються ознаки лактацидозу, посилення вільно-радикальних процесів на фоні недостатньої активності антиоксидантної системи, порушення структури та функції біомембран.

Причиною надлишкового виникнення вільних радикалів при крововтраті є блокада кінцевого звена у дихальному ланцюзі в мітохондріях, потік електронів на шляху до цитохромоксидази, що призводить до одноелектронного відновлення кисню з утворенням його активних форм. Як відомо, в умовах стану гострої крововтрати збільшується трансформація ксантиндегідрогенази в ксантиноксидазу, яка ініціює утворення супероксидного аніон-радикалу [7, 10, 12, 18, 20, 30, 38]. В той же час

активація симпато-адреналової системи, яка формується при крововтраті різного генезу, також супроводжується збільшенням утворення активних форм кисню при аутоокисненні адреналіну [30].

За даними літератури, відомо, що головним звеном системних функціональних та метаболічних розладів при гіпоксіях різного генезу є активація вільнорадикального окиснення, а саме, ліпопероксидація [30].

Як відомо, надмірне накопичення активних форм кисню (АФК) контролюється діяльністю антиоксидантних ферментів [11, 13, 15, 22, 24, 27]. До цих ферментів відносяться супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза і церулоплазмін [4-6, 8, 9, 19, 23, 28, 40, 42, 44]. Ферменти-антиоксиданти забезпечують пряме знешкодження кисню, зводять до мінімуму концентрацію перекису водню, супероксидного радикалу і різко зменшують утворення токсичного радикалу $\text{OH}\cdot$ [11, 13, 22, 23, 28].

Керована модель гострої крововтрати дозволяє отримати динамічну характеристику наростаючого процесу, а також визначити в розвитку гострої крововтрати періоди, істотні для розуміння її механізмів, що, в свою чергу, дозволяє направлено вибирати терміни для поглибленого дослідження енергетичного режиму. У цих умовах можна виявити регуляторну спрямованість у зміні метаболічної адаптації в загальному комплексі гіпоксичних порушень. Керована модель дозволяє виявити інтеграцію між кисневим режимом системи та її метаболічною відповіддю.

У зв'язку з вищесказаним, **метою** даного дослідження було вивчення активності глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в різних органах щурів в умовах гострої крововтрати.

У відповідності з метою були поставлені наступні завдання дослідження:

1. Дослідити активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази у мозку, печінці, серці та крові контрольної групи щурів.

2. Вивчити активність глутатіонпероксидази у мозку, печінці, серці та крові щурів при гострій крововтраті.

3. Дослідити активність глутатіонредуктази у мозку, печінці, серці та крові щурів при гострій крововтраті.

Об'єкт дослідження. Стан антиоксидантної системи в органах білих безпорідних щурів.

Предмет дослідження. Активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази в органах щурів при гострій крововтраті.

ВИСНОВКИ

1. В досліджуваних органах контрольної групи щурів максимальну активність глутатіонпероксидази та глутатіонредуктази спостерігали в крові ($0,560 \pm 0,04$ мкмоль GSSG /мг білка/хв та $0,240 \pm 0,02$ мкмоль НАДРН/мг білка/хв, відповідно), а мінімальний вміст – в тканинах мозку та серця.

2. На 14 добу після гострої крововтрати в досліджених тканинах щурів (окрім тканин мозку) активність глутатіонпероксидази достовірно знижувалась на 35%, по відношенню до контролю.

3. Активність глутатіонредуктази в дослідних тканинах щурів з анемією після крововтрати максимально знижувалась на 7-у добу перебігу патології (на 53 %), по відношенню до контролю.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Барабой В.А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. Биологии. - 1991. - Т. 111, № 6. - С. 923-931.
2. *Барабой В.А., Сутковой Д.А.* Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Наукова думка, 1997. – 420 с.
3. *Барабой В.А.* Перекисное окисление и стресс. - М.: Наука, 2004. - 148с.
4. *Бобырев В.Н.* Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей – основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2005. – Т. 57, №1. - С. 78-86.
5. *Бондарь Т.Н.* Восстановление органических гидроперекисей глутатионпероксидазой и глутатион-S-трансферазой: влияние структуры субстрата // Докл. АН СССР. - 1989. - Т. 304, №1. – С. 217-220.
6. *Булгакова Е.Б.* Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. - 2006. - № 9. – 250 с.
7. *Бурлакова Е.Б.* Перекисное окисление липидов мембран // Успехи химии. - 2004. - Т. 54. - С. 1540-1558.
8. *Бурлакова Е.Б.* Роль токоферолов в пероксидном окислении липидов биомембран // Биологические мембраны. - 1998. - Т. 15, № 2. - С. 137-167.
9. *Василец И.М.* Церулоплазмины. Их молекулярная структура и биологические функции // Успехи биол. химии. - 2004. - № 14. - С. 172-200.
10. *Владимиров Ю.А.* Перекисное окисление липидов в биомембранах - М.: Наука, 2003. – С. 230-272.
11. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. - 2000. – Т. 29. - С. 151-167.
12. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. - 1998. - № 7. - С. 43-51.

13. *Воейков В.Л.* Благотворная роль активных форм кислорода // Биохимия. - 2004. - № 1 - С. 27-38.
14. *Воскресенский О.Н., Левицкий А.П.* Перекиси липидов в живом организме // Вопр. мед. химии. - 2003. - Т. 16, № 6. – С. 563-583.
15. *Воскресенский С.К. Жутаев И.А., Бобырев В.Н. с соавт.* Антиоксидантная система, онтогенез и старение // Вопр. мед. химии. - 2004. - № 1. - С. 14-27.
16. *Горячковский А.Г.* Клиническая биохимия. – Одесса: Астропринт. – 1998. – 572 с.
17. *Дворецкий Л.И.* Состояние процессов свободнорадикального перекисного окисления у больных железодефицитной анемией на фоне лечения препаратом Сорбифер Дурулес // РМЖ. – 2008. - №17. – С. 1116-1120.
18. *Дубина Е.Е.* Некоторые особенности функционирования ферментной антиоксидантной защиты плазмы крови человека // Биохимия. - 2005. - Вып. 2. – С. 3-18.
19. *Евстигнеева Р.П., Волков И.М., Чудинова В.В.* Витамин Е как универсальный антиоксидант и стабилизатор биологических мембран // Биол. мембраны. - 2003. - № 2. С. 119-137.
20. *Евсюкова И.И., Савельева Т.В.* Свободнорадикальное окисление у доношенных новорожденных детей с различной патологией // Педиатрия. - 2005. - №1. – С. 13-16.
21. *Журавлев А.И.* Биоантиокислители в живом организме. - М.: Наука, 2003. - С. 19-30.
22. *Журавлева Т.Д., Суплотов С.Н., Киянюк Н.С. с соавт.* Возрастные особенности свободнорадикального окисления липидов и антиоксидантной защиты в эритроцитах здоровых людей // Вопр. мед химии. - 2003. - № 5. - С. 17-18.

23. Зборовская В.А., Банникова М.В. Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме // Вестник РАМН. - 2000. - № 6. - С. 53-63.
24. Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс - М.: Наука, 2004. – 343 с.
25. Зюбина Л.Ю. Патогенез, клиника, диагностика и лечение висцеральных поражений при железодефицитных состояниях: Автореф. дис....докт. мед. наук. – Новосибирск, 2000. – 57 с.
26. Кения М.П., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи современной биологии. - 1993. - Т. 113. - № 4. - С. 456-468.
27. Колесниченко Л.С., Кулинский В.И. Глутатионтрансферазы // Успехи совр. биологии. - 2004. - Т. 107, вып. 2. - С. 179-193.
28. Лакин Г.Ф. Биометрия - М.: Высш. школа, 1998. – 293 с.
29. Ловцова Л.В. Влияние препаратов железа на процесс перекисного окисления липидов при лечении железодефицитной анемии у беременных // Медицинский альманах. – 2011. - №4. – С. 177-180.
30. Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи соврем. биологии. - 1993. - Т. 113, №4. - С. 442-453.
31. Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. с соавт. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. - М.: «Слово», 2006. – 553 с.
32. Мусаев А.Т. Диагностика гипоксии плода по данным показателей перекисного окисления липидов и антиокислительной активности // Педиатрия. - 2004. - № 12. – С. 88-96.
33. Осипов А.Н., Азизова О.А., Владимиров Ю.А. Активные формы кислорода и их роль в организме // Успехи соврем. Биологии. - 2003. - Т. 31. - С. 180-208.

34. *Осипов А.Н., Якутова Э.Ш., Владимиров Ю.А.* Образование гидроксильных радикалов при взаимодействии гипохлорита с ионами железа // *Биофизика.* - 2003. – Т. 38, вып 3. – С. 390-396.
35. *Петрович Ю.А., Гуткин Д.В.* Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // *Патол. физиол. и эксперим. терапия.* - 2005. - № 5. - С. 85-92.
36. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. – Минск: Высш. школа, 1973. – С. 320 – 329.
37. *Суханова Т.А.* Патохимия клетки // *Успехи соврем. биологии.* - 2004. – Т. 40. – С. 82-104.
38. *Тиунов Л.А.* Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты // *Вестн. РАМН.* - 1995. - № 3. - С. 9-13.
39. *Хавинсон В.Х., Баринов В.А., Арутюнян А.В. с соавт.* Свободнорадикальное окисление и старение - СПб.: Наука, 2003. - С. 10-122.
40. *Шепелев А.П., Корниенко И.В., Шестопалов А.В. с соавт.* Роль процессов свободнорадикального окисления в патогенезе инфекционных болезней // *Вопр. мед. химии.* - 2004. - № 2. - С. 15-17.
41. *Якутова Э.Ш., Дремина Е.С., Евгина С.А. с соавт.* Образование свободных радикалов при взаимодействии гипохлорита с ионами железа // *Биофизика.* - 2004. – Т. 39, вып. 2. – С. 275-279.
42. *Abiaka C., Al-Awadi F., Olusi S.* Effect of Prolonged Storage on the Activities of Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase, and Glutathione Peroxidase // *Clinical Chemistry.* - 2003. - Vol. 46, Issue 4 - P. 560-576.
43. *Auchere F., Rusnak F.* What is the ultimate fate of superoxide anion in vivo? // *J. Biol. Inord. Chem.* - 2005. - Vol. 7 - P. 664-667.
44. *Beyer R. E.* The participation of coenzim Q in free radical production and antioxidation // *Free Radic. Biol. Med.* - 2004. – Vol. 8. – P. 545-565.
45. *Birringer M., EyTina J. H., Salvatore B A.* Vitamin E analogues as inducers of apoptosis: structure-function relation // *Br. J. Cancer.* - 2003. – Vol. 88. – P. 1948-1955.

46. *Cord J.M., Fridovich I.* Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) // *J. Biol. Chem.* - 2000. - Vol. 244, Issue 22. - P. 6049-6055.

47. *Dix T.A., Aikens J.* Mechanisms and biological significance of lipid peroxidation initiation // *Chem. Res. Toxicol.* - 2005. - Vol. 6. - P. 2-18.

48. *Eisenberg W. C., Taylor K., Guerrero R. R.* Cytogenetic effects of singlet oxygen // *J. Photochem. Photobiol.* - 2002. - Vol. 16. - P. 381-384.

49. *Galeotti T., Masotti L., Borello S.* Oxy-radical metabolism and control of tumour growth // *Xenobiotika.* - 2003. - Vol. 21. - P. 1041-1052.

50. *Kurtoglu E.* Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron deficiency anemia // *Biol. Trace Elena Res.* - 2003. - № 96 (1-3). - P. 117-124.

