

ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА

Біологічний факультет

Кафедра біохімії

Дипломна робота
спеціаліста

на тему: **«Активність супероксиддисмутази та каталази в
тканинах щурів в нормі та при крововтраті»**

«Superoksiddismutaze and catalase activity at rat tissues in normal and with blood loss»

Виконала: студентка денної форми
навчання

напряму 6.040102 Біологія

Наконечних Ганна Ігорівна

Науковий керівник

кандидат біологічних наук, доцент

Сорокін Андрій Вікторович

Рецензент:

кандидат біологічних наук, доцент

Мирось Світлана Леонідівна

Рекомендовано до захисту:

Протокол засідання кафедри

№ _____ від «___» _____ р.

Завідувач кафедри

.....
(підпис)

Захищено на засіданні ЕК № 2

Протокол № _____ від «___» _____ р.

Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою, шкалою ECTS, бал)

Голова ЕК

.....
(підпис)

АНОТАЦІЯ

У дипломній роботі наведені результати дослідження з визначення активності супероксиддисмутази та каталази в органах щурів при крововтраті.

Визначено, що максимальна активність СОД в органах контрольної групи щурів спостерігається в тканинах печінки, а мінімальна – в тканинах серця та мозку. Активність каталази в органах контрольної групи щурів була максимальною в печінці, а мінімальною – в серці.

При крововтраті активність СОД вже на 3-у добу мала тенденцію до зменшення. На 7-у та 14-ту добу перебігу крововтрати, ми спостерігали достовірне зменшення активності СОД в тканинах мозку на 35%, по відношенню до контролю, в тканинах нирок – на 50 %, в тканинах серця – на 45%. Активність каталази на 3 добу в тканинах мозку та серця збільшувалась, в порівнянні з контрольною групою щурів, та зменшувалась в тканинах нирок та печінки. На 7-у добу перебігу патології було відмічено достовірне зниження активності ензиму на 50% в тканинах мозку, на 33% в тканинах нирок, що стосується активності каталази в тканинах печінки та серця достовірних змін, по відношенню до контролю, не спостерігалось.

Роботу викладено на 47 сторінках друкованого тексту, вона включає 2 таблиці і 2 малюнка. В роботі наведено посилання на 49 публікації кирилицею та 7 латиницею.

Ключові слова: *супероксиддисмутаза, каталаза, перекисне окислення ліпідів, антиоксидантна система, крововтрата*

Diploma thesis presents the results of studies superoksiddismutaze and catalase activity at rat tissues with blood loss.

It was determined that the maximum superoksiddismutaze activity in the organs of control group rats observed in liver tissue and the minimum - in the

tissues of the heart and brain. Catalase activity in the organs of rats in the control group was the highest in the liver, and the lowest - in the heart.

When blood loss superoksiddismutaze activity at the 3-day tended to decrease. On the 7th and 14th day flow of blood loss, we observed a significant decrease in superoksiddismutaze activity in brain tissues by 35%, relative to controls, in the tissues of the kidneys - 50% in the tissues of the heart - by 45%. Catalase activity of the brain and heart tissues increased on the 3rd day of blood loss and reduced at the tissues of kidneys and liver. At the 7th day of pathology significantly decreased enzyme activity in brain tissues by 50%, and by 33% in kidneys tissues; the reliable changes of catalase activity at the tissues of liver and heart wasn't observed.

Diploma thesis is expounded on 47 pages, it contains 2 table and 2 figures. It provides links to 56 references (49 cyrillic and 7 latinic).

Keywords: *superoxide dismutase, catalase, lipid peroxidation, antioxidant system, blood loss*

ЗМІСТ

ВСТУП.....	6
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Характеристика перекисного окислення ліпідів.....	8
1.1.1. Стадії перекисного окислення ліпідів.....	11
1.1.2. Пошкодження клітин в результаті ПОЛ.....	13
1.1.3. Системи захисту клітин від активних форм кисню...	14
1.2. Загальні властивості супероксиддисмутази.....	15
1.3. Загальні властивості каталази.....	19
1.4. Характеристика патологічного стану – крововтрати.....	22
2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	25
2.1. Матеріал дослідження.....	25
2.2. Методи дослідження супероксиддисмутази.....	25
2.2.1. Метод визначення активності супероксиддисмутази..	25
2.3. Статистична обробка результатів дослідження.....	26
2.4. Методи дослідження каталази.....	27
2.4.1. Метод визначення активності каталази.....	27
2.5. Статистична обробка результатів дослідження.....	28
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	29
3.1. Результати визначення активності супероксиддисмутази в органах контрольної групи щурів.....	29
3.2. Активність супероксиддисмутази в органах щурів при крововтраті в динаміці перебігу патології.....	30
3.3. Активність каталази в органах контрольної групи щурів..	34
3.4. Активність каталази в органах щурів при гострій крововтраті.....	34
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	41
ВИСНОВКИ.....	42
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	43

ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРІВІАТУРИ

АФК – активні форми кисню

ВР – вільні радикали

ВРО – вільнорадикальне окислення

ЕТЛ – електронно-транспортний ланцюг

ОЦК — об'єм циркулюючої крові

ПОЛ – перекисне окислення ліпідів

СОД – супероксиддисмутаза

Нб – гемоглобін

ГК – гостра крововтрата

ВСТУП

В даний час дослідження процесів, що відбуваються в організмі при крововтраті набуває особливої актуальності. Крововтрата займає одне з провідних місць в структурі смертності та летальних випадків, будучи безпосередньою причиною смерті в 4,1-16,3% випадків, пов'язаних з проведенням оперативних втручань [6], в 38,0% випадків – при вогнепальних пораненнях [3].

Із літературних джерел відомо, що при крововтраті відбувається порушення киснево-транспортної функції крові [7,10], і це призводить до активізації процесів перекисного окислення ліпідів з одночасним пригніченням функції системи антиоксидантного захисту організму, що ми і спостерігали у наших експериментах. Від сучасного лікаря потрібно таке лікування, яке допомагає організму пацієнта максимально використовувати власні механізми фізіологічного захисту від гострої крововтрати. Стан антиоксидантної системи захисту при умовах недокрів'я вивчено недостатньо, особливо в тканинах органів, що представляє особливий інтерес, оскільки органи страждають в першу чергу і несуть основне функціональне навантаження при гострій крововтраті. У зв'язку з вищесказаним представлена робота становить науково-практичний інтерес і присвячена дослідженню зміни біохімічних процесів в організмі, що є важливим в вивченні антиоксидантної системи, яка виконує захисну функцію при крововтраті.

Крововтрата - типовий патологічний процес, який зустрічається не тільки при відкритій травмі, але і при закритих травмах. Розвиток недокрів'я при тих чи інших формах патології, призводить не тільки до розгалуження системної гемодинаміки, регіонарного кровотоку, мікроциркуляції, змінам якісного та кількісного складу крові, активності ферментів тканинного

дихання, але й до порушень окисно-відновлюваних процесів та енергозабезпечення тканин [2, 4].

Як відомо, надмірне накопичення активних форм кисню (АФК) контролюється діяльністю антиоксидантних ферментів [14, 18, 19, 28, 31]. До цих ферментів відносяться супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза і церулоплазмін [6-8, 10, 12, 25, 30, 36, 50, 52]. Ферменти-антиоксиданти забезпечують пряме знешкодження кисню, зводять до мінімуму концентрацію перекису водню, супероксидного радикалу і різко зменшують утворення токсичного радикалу $\text{OH}\cdot$ [14, 16, 28, 30, 36].

Мета роботи - дослідження активності супероксиддисмутази та каталази в різних органах щурів в умовах гострої крововтрати.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні **завдання**:

1. Дослідити активність супероксиддисмутази та каталази у мозку, печінці, серці та нирках контрольної групи щурів.
2. Дослідити активність супероксиддисмутази та каталази у мозку, печінці, серці та нирках щурів при гострій крововтраті в динаміці перебігу патології.

Об'єкт дослідження. Стан антиоксидантної системи в тканинах білих безпородних щурів.

Предмет дослідження. Активність супероксиддисмутази та каталази в тканинах щурів.

УЗАГАЛЬНЕННЯ

За даними літератури, відомо, що головною ланкою системних функціональних та метаболічних розладів при гіпоксіях різного генезу, в тому числі і при гострій крововтраті, є активація вільнорадикального окислення, а саме, ліпопероксидація [23].

Як відомо, надмірне накопичення активних форм кисню (АФК) контролюється діяльністю антиоксидантних ферментів [14, 18, 19, 28, 31]. До цих ферментів відносяться супероксиддисмутаза, каталаза, пероксидаза і церулоплазмін [6-8, 10, 12, 25, 30, 36, 50, 52]. Ферменти-антиоксиданти забезпечують пряме знешкодження кисню, зводять до мінімуму концентрацію перекису водню, супероксидного радикалу і різко зменшують утворення токсичного радикалу $\text{OH}\cdot$ [14, 16, 28, 30, 36]. Корекція патологічних змін, що розвиваються в результаті активації вільнонорадикальних процесів, вимагає пошуку ефективних природних і синтетичних антиоксидантів.

Згідно з отриманими нами результатами, вплив гострої крововтрати призводить до зменшення активності СОД та каталази у всіх досліджуваних тканинах у порівнянні з контролем.

Отримані в результаті експериментів дані показали, що під впливом ГК спостерігається порушення систем перехоплення супероксидних радикалів в досліджуваних органах і тканинах.

При підведенні підсумків наших досліджень стає очевидним, що при ГК в тканинах білих щурів вірогідно знижується активність СОД в порівнянні з нормою. Ймовірно, в умовах патологічного процесу ферментативна ланка антиоксидантної системи пригнічується і накопичуються токсичні продукти перекисного окиснення.

ВИСНОВКИ

1. Визначено, що максимальна активність СОД в органах контрольної групи щурів спостерігалась в тканинах печінки, а мінімальна – в тканинах серця та мозку.

1. Активність СОД, в дослідних тканинах, вже на 3-у добу перебігу ГК, мала тенденцію до зменшення. На 7-у та 14-ту добу перебігу крововтрати, ми спостерігали достовірне зменшення активності СОД в тканинах мозку на 35 %, по відношенню до контролю, в тканинах нирок – на 50 %, в тканинах серця – на 45%.

2. Активність каталази в органах контрольної групи щурів була максимальною в печінці ($4,773 \pm 0,5$ мМ/г), мінімальною – в серці ($1,322 \pm 0,2$ мМ/г).

3. При крововтраті активність каталази на 3 добу в тканинах мозку та серця збільшувалась, в порівнянні з контрольною групою щурів, та зменшувалась в тканинах нирок та печінки; на 7-у добу перебігу патології було відмічено достовірне зниження активності ензиму на 50% в тканинах мозку, на 33% в тканинах нирок, що стосується активності каталази в тканинах печінки та серця достовірних змін, по відношенню до контролю, не спостерігалось. Подальший перебіг крововтрати характеризувався відновленням активності каталази до контрольних значень.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Александрова Е. Б.* Процеси перекисного окислення ліпідів і показники функції антиоксидантної системи організму при СВЧ-дії різної інтенсивності (огляд) [Електронний ресурс] // Вісник нових медичних технологій. – 2014. – Т. 8, № 1. – Режим доступу до статті: <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4871.pdf>
2. *Барабой В.А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. Биологии. - 1991. - Т. 111, № 6. - С. 923-931.
3. *Барабой В.А., Орел В.Э., Карнаух І.М.* Перекісне окиснення і радіація. — К.: Наукова Думка, 1991. – 173с.
4. *Барабой В.А.* Перекисное окисление и стресс. - М.: Наука, 2004. - 148с.
5. *Біохімія: Підр. для вузів / Під. ред. Е. С. Северіна.* – М.: ГЭОТАР Медіа, 2003. – 779 с.
6. *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.
7. *Бондарь Т.Н.* Восстановление органических гидроперекисей глутатионпероксидазой и глутатион-S-трансферазой: влияние структуры субстрата // Докл. АН СССР. - 1989. - Т. 304, №1. – С. 217-220.
8. *Булгакова Е.Б.* Перекисное окисление липидов мембран и природные антиоксиданты // Успехи химии. - 2006. - № 9. – 250с.
9. *Бурлакова Е.Б.* Перекисное окисление липидов мембран // Успехи химии. - 2004. - Т. 54. - С. 1540-1558.
10. *Бурлакова Е.Б.* Роль токоферолов в пероксидном окислении липидов биомембран // Биологические мембраны. - 1998. - Т. 15, № 2. - С. 137-167.

11. Бухало А. С. Вищі базидіоміцети в чистій культурі. – К.: Наук. думка, –1988. – 144с.
12. Василец І.М. Церулоплазмины. Их молекулярная структура и биологические функции // Успехи биол. химии. - 2004. - № 14. - С. 172-200.
13. Владимиров Ю.А. Перекисное окисление липидов в биомембранах - М.: Наука, 2003. – С. 230-272.
14. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы в живых системах // Итоги науки и техники. - 2000. – Т. 29. - С. 151-167.
15. Владимиров Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестн. РАМН. - 1998. - № 7. - С. 43-51.
16. Воейков В.Л. Благотворная роль активных форм кислорода // Биохимия. - 2004. - № 1. - С. 27-38.
17. Воробьев А.И. Пособие по гематологии. - М.: «Медицина». – 1985. – 341с.
18. Воскресенский О.Н., Левицкий А.П. Перекиси липидов в живом организме // Вопр. мед. химии. - 2003. - Т. 16, № 6. – С. 563-583.
19. Воскресенский С.К. Жутаев И.А., Бобырев В.Н. с соавт. Антиоксидантная система, онтогенез и старение // Вопр. мед. химии. - 2004. - № 1. - С. 14-27.
20. Горячковский А.Г. Клиническая биохимия. – Одесса: Астропринт. – 1998. – 572 с.
21. Дворецкий І.Х. Давньогрецько-російський словник. - М.: Державне видавництво іноземних і національних словників. – 1958. – Т. 1. – С. 896.
22. Діагностика біологічних ознак і розробка об'єктивних показників для оцінки при відборі сіянців винограду. Виноградарство и виноробство. — Тр. / ВНІВіВ "Магарач". – 2002. – Т. 16. – 245с.
23. Дубина Е.Е. Некоторые особенности функционирования ферментной антиоксидантной защиты плазмы крови человека // Биохимия. - 2005. - Вып. 2. – С. 3-18.

24. *Дубинина Е.Е.* Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма // Успехи современной биологии. - 2004. - Т. 108, № 1. – С. 3-17.
25. *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.
26. *Евсюкова И.И., Савельева Т.В.* Свободнорадикальное окисление у доношенных новорожденных детей с различной патологией // Педиатрия. - 2005. - №1. – С. 13-16.
27. *Журавлев А.И.* Биоантиокислители в живом организме. - М.: Наука, 2003. - С. 19-30.
28. *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. 88-112.
29. Залізодефіцитна анемія у дітей грудного та раннього віку / Л. М. Гордієнко, А. А. Вялкова, А. В. Мещерякова – О.: РИС ОрГМА, 2013. – 57 с.
30. *Зборовская В.А., Банникова М.В.* Антиоксидантная система организма, ее значение в метаболизме // Вестник РАМН. - 2000. - № 6. - С. 53-63.
31. *Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б.* Окислительный стресс - М.: Наука, 2004. – 343 с.
32. *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.
33. *Климанский В.А., Рудаев Я.И.* Трансфузионная терапия при хирургических заболеваниях. - М.: Медицина, 1984.- 256с.
34. *Колесниченко Л.С., Кулинский В.И.* Глутатионтрансферазы // Успехи совр. биологии. - 2004. - Т. 107, вып. 2. - С. 179-193.

35. Курс лекцій з біохімії: посібник для студентів лікувального та педіатричного факультетів / Ст. Ст. Лелевич . – Гродно: ГрГМУ, 2009. – 332с.
36. *Меньщикова Е.Б., Зенков Н.К.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи соврем. биологии. - 1993. - Т. 113, № 4. - С. 442-453.
37. *Меньщикова Е.Б., Ланкин В.З., Зенков Н.К. с соавт.* Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты. - М.: «Слово», 2006. – 553с.
38. *Мецлер Д. Е.* Біохімія: В 3-х т. Переклад з англійської — Москва. – 2000. — Т. 1. – 312с.
39. *Номенклатура ферментів* / Під. ред. А. Е. Браунштейна: Переклад з англійської — Москва. – 1966. – 186с.
40. *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.
41. *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.
42. *Петрович Ю.А., Гуткин Д.В.* Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патол. физиол. и экперим. терапия. - 2005. - № 5. - С. 85-92.
43. *Петрова Е.В.* Оптимізація тактики ведення вагітності, ускладненою анемією і пієлонефритом: автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата медичних наук. – Мінськ. – 2007. – 25с.
44. *Пидопличко Н. М., Борисова В. Н., Эланска І. А.* Про пероксидазу у мікроміцетів. – У кн.: Методи експериментальної мікології: Довідник / Билай В. І., Дудка І. А., Вассер С. П., Эланская М. А. та ін. - К.: Наук. думка. – 1982. – 550с.
45. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. – Минск: Высш. школа, 1973. – 329с.

46. *Скворцов В. В.* Вплив внутрішньовенного лазерного опромінення крові на клініко-лабораторні синдроми у хворих із захворюваннями печінки // Довідник лікаря загальної практики. – 2013. – № 5 – С. 21-24.
47. *Суханова Т.А.* Патохимия клетки // Успехи соврем. биологии. – 2004. – Т. 40. – С. 82-104.
48. *Терлецкий Е.Д.* Метали, які завжди з тобою. Мікроелементи і життєзабезпечення організму – М.: Знання. – 1986. – 144 с.
49. *Тимофеев И. В.* Патология лечения: руководство для врачей. – СПб.: Северо-Запад, 1999. – 656 с.
50. *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.
51. *Auchere F., Rusnak F.* What is the ultimate fate of superoxide anion in vivo? // J. Biol. Inord. Chem. - 2005. - Vol. 7 - P. 664-667.
52. *Beyer R. E.* The participation of coenzim Q in free radical production and antioxidation // Free Radic. Biol. Med. - 2004. – Vol. 8. – P. 545-565.
53. *Cord J.M., Fridovich I.* Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein) // J. Biol. Chem. - 2000. - Vol. 244, Issue 22. - P. 6049-6055.
54. *Dix T.A., Aikens J.* Mechanisms and biological significance of lipid peroxidation initiation // Chem. Res. Toxicol. - 2005. - Vol. 6. - P. 2-18.
55. *Eisenberg W. C., Taylor K., Guerrero R. R.* Cytogenetic effects of singlet oxygen // J. Photochem. Photobiol. - 2002. – Vol. 16. – P. 381-384.
56. *Galeotti T., Masotti L., Borello S.* Oxy-radical metabolism and control of tumour growth // Xenobiotika. - 2003. – Vol. 21. – P. 1041-1052.