

Д/р  
12208

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**  
спеціаліста

на тему «Стан процесів перекисного окислення ліпідів в органах  
щурів в нормі та при патології»

«Processes of lipid peroxygenation in the body tissues of rats in the  
normal state and the state of pathology»

Виконала: студентка денної форми навчання

напряму підготовки 7.040102/Біологія

Єрмоєнко Крістіна Костянтинівна

Керівник: к.біол.н., доц. Чернадчук С. С.

Рецензент: к.біол.н., доц. Білоконь С.В.

Рекомендовано до захисту:  
Протокол засідання кафедри  
№ 19 від «23» 05 2016р.  
Завідуючий кафедрою

(підпис) (прізвище, ініціали)

Захищено на засіданні ЕК № 1  
протокол № 85 від «24» 06.16р.

Оцінка вирн. / А / 90  
(за 4-х та за 100 бальною шкалою)

Голова ЕК   
(підпис) (прізвище, ініціали)

Одеса – 2016

779385

## АНОТАЦІЯ

Проведено дослідження вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в тканинах щурів в нормі та при гострій крововтраті.

В умовах гострої крововтрати достовірно збільшувався вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду у всіх досліджуваних тканинах у порівнянні з контролем.

Роботу викладено на 42 сторінках, вона містить 6 рисунків та 2 таблиці. Наведено посилання на 49 джерела літератури (40 кирилицею та 9 латиницею).

**Ключові слова:** *малоновий діальдегід, дієновий кон'югат, перекисне окислення ліпідів.*

The research content of diene conjugates and malondialdehyde in rat tissues in normal and iron deficiency anemia.

In terms of iron deficiency anemia was significantly increased content of malondialdehyde and diene conjugates in all tissues studied compared to control.

Diploma thesis is expounded on 42 pages, it contains 2 tables and 6 figures. It provides links to 49 references (40 cyrillic and 9 latinic).

**Key words:** *malondialdehyde, diene conjugates, lipid peroxidation*

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
1.ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Загальні відомості про вільнорадикальне окислення .....	8
1.2. Перекисне окислення ліпідів.....	10
1.2.1.Продукти перекисного окислення ліпідів.....	12
1.3. Малоновий діальдегід як інтегральний показник процесів .....	
вільнорадикального окиснення .....	14
2.МАТЕРІАЛ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	18
2.1. Матеріал дослідження.....	18
2.2. Методи дослідження .....	18
2.2.1. Метод визначення малонового діальдегіду за допомогою	
тіобарбітурової кислоти .....	18
2.2.2. Визначення вмісту дієнових кон'югатів.....	19
2.3. Статистична обробка результатів дослідження.....	20
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ.....	22
3.1. Вміст дієнових кон`югатів та малонового діальдегіду в тканинах	
щурів в нормі.....	22
3.2. Вміст дієнових кон`югатів та малонового діальдегіду в тканинах	
щурів при гострій крововтраті .....	24
УЗАГАЛЬНЕННЯ.....	34
ВИСНОВКИ .....	36
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ .....	37

## ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ

АОС - антиоксидантна система;

АФК - активні форми кисню;

ВРО - вільнорадикальне окиснення;

ГК – гостра крововтрата;

ДК - дієнові кон'югати;

ЖК - жирні кислоти;

МДА - малоновий діальдегід;

НЖК - ненасичені жирні кислоти;

ПОЛ - перекисне окислення ліпідів

## ВСТУП

В останні роки широко обговорюється роль активних форм кисню (АФК) і ініційованих ними вільнорадикальних процесів при різних патологічних і фізіологічних процесах. В нормальних умовах активність цих процесів знаходиться на невисокому рівні, але при стресових ситуаціях відбувається посилене утворення АФК, під дією яких відбувається надмірна і неконтрольована активація процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ), що може привести до патологічного стану, який супроводжується дисбалансом ферментативних і неферментативних компонентів системи антиоксидантного захисту [39 - 41].

У процесі розвитку деяких патологічних процесів різко підвищується інтенсивність ліпопероксидації, що робить її універсальним механізмом пошкодження клітинних мембран. Продукти переокисного окислення мембранотоксичні, вони деформують мембрани клітин, порушують їх осмотичну резистентність і електричний потенціал, окислюють тіолові сполуки і SH-групи білків мембран, розривають нуклеїнові кислоти, денатурують білки, пошкоджують амінокислоти, сприяють деградації макромолекул сполучної тканини [13,43, 45].

Характерним проявом окисного стресу є інтенсифікація процесів пероксидного окислення ліпідів, індикатором якого служить збільшення вмісту хоча б одного з його продуктів. Дані про вміст продуктів ПОЛ в біологічних об'єктах можуть нести в собі інформацію про глибину і ступінь патологічного процесу. В якості кількісних маркерів найбільш часто використовуються такі показники ПОЛ, як дієнові кон'югати (ДК), а також один з його кінцевих продуктів - малоновий діальдегід (МДА).

Гостра крововтрата (ГК) патофізіологічно супроводжується синдромом гіпоксії. Пошкоджуюча дія гіпоксії, в умовах недокрив'я,

характеризується лавиноподібним накопиченням недоокиснених продуктів з появою високотоксичних вільних радикалів [47, 49].

Профілактика, діагностика і лікування патологій, які супроводжуються гіпоксією залишається однією з актуальних проблем сучасної медицини.

За останні роки виділені різні етіологічні фактори і окремі патогенетичні механізми, що лежать в основі розвитку гіпоксії.

Детальний аналіз патофізіологічних змін, пов'язаних з нестачею кисню, свідчить про те, що сучасні функціональні діагностичні технології дозволяють виявити лише наслідки гіпоксії. Недоступними для діагностики залишаються гіпоксично - ішемічні ушкодження органів на клітинному рівні, у зв'язку з чим біохімічні методи дослідження є найбільш перспективними.

У зв'язку з цим викликає інтерес вивчення показників перекисного окислення ліпідів і антиоксидантної системи в тканинах живого організму при недокрив'ї, яке супроводжується гіпоксичним станом.

**Мета** даної роботи - вивчити вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду, як одних з продуктів перекисного окислення ліпідів у тканинах білих щурів при гострій крововтраті в динаміці розвитку патології.

У завдання роботи входило:

1. Дослідити вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в різних тканинах щурів, які входили в контрольну групу.
2. Вивчити вміст дієнових кон'югатів в тканинах щурів при гострій крововтраті.
3. Визначити вміст МДА в тканинах щурів при гострій крововтраті.

4. Оцінити зміни показників у щурів із гострою крововтратою у порівнянні з показниками контрольних щурів.

*Об'єкт дослідження.* Стан оксидантної системи в тканинах щурів.

*Предмет дослідження.* Вміст дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду в тканинах щурів.

## УЗАГАЛЬНЕННЯ

Керовані експериментальні моделі різних патологій, у тому числі і гострої крововтрати, дозволяють отримати динамічну характеристику наростаючого процесу, а також визначити у розвитку ГК 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 зрушень. Керована модель дозволяє виявити інтеграцію між кисневим режимом системи та її метаболічним відповіддю.

Шкідливу дію недокрів'я характеризує лавиноподібне накопичення недоокислених продуктів з появою високотоксичних вільних радикалів, що, в свою чергу, призводить до дезорганізації дихального ланцюга і енергетичного дефіциту в клітинах [21-24].

Доведено, що в умовах гострої крововтрати процеси окислення, за яких утворюються активні форми кисню, набувають характеру ланцюгової реакції в організмі, що призводить до утворення ліпоперекисів. Вільні іони  $Fe^{2+}$  мають прооксидантні здатності, їхній надлишок у крові ініціює вільнорадикальне перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), спричиняє утворення  $OH\cdot$ , пошкодження мембранних структур клітин, вихід із них лізосомальних ферментів і, як наслідок, ушкодження органів і тканин [35].

Згідно з отриманими нами результатами, вплив недокрів'я призводить до достовірного збільшення вмісту дієнових кон'югатів та малонового діальдегіду у всіх досліджуваних тканинах у порівнянні з контролем, що свідчить про напружену роботу захисних сил клітини, таким чином, вказує на зниження антиоксидантного захисту організму.

Таким чином, дефіцит кисню в умовах гострої крововтрати призводить до швидкого розладу функціонування прооксидантної і антиоксидантної систем, які в нормі формують стабільний енергетичний гомеостаз.

## ВИСНОВКИ

1. Максимальний вміст малонового діальдегіду у контрольної групи щурів спостерігали в тканинах нирок (44,03 мкмоль/г тканини), а мінімальний вміст – в тканинах серця (18,7 мкмоль/г тканини). Максимальний вміст ДК спостерігали в крові ( $9,08 \pm 0,97$  нмоль/мл), мінімальний вміст - в тканинах печінки ( $2,52 \pm 0,31$  нмоль/г).

2. В умовах гострої крововтрати вміст ДК максимально збільшувався, в усіх досліджуваних тканинах, на 7-у добу перебігу недокрів'я (в мозку - на 16 %, в печінці – на 94%, в серці – на 49% та крові – на 26%).

3. Максимальне збільшення вмісту МДА, в тканинах щурів, спостерігали на 7-у добу перебігу недокрів'я (в мозку - на 48 %, в печінці – на 81%, в серці – на 94% та крові – на 85%).

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И.* Человек и противокислительные вещества. – Л.: Наука, 2000. – 230 с.
2. *Алуханян О.А., Абрамов Ю.Г., Сторожук П.Г.* Роль показателей антиоксидантной системы в диагностике облитерирующего атеросклероза сосудов нижних конечностей // Сб. науч. трудов. – М.: Авиаиздат., 2002. – С. 12 – 13.
3. *Антоняк Г. Л. и др.* Утворення активних форм кисню та система антиоксидантного захисту в організмі тварин // Біологія тварин. – 2000. – Т. 2, №. 2. – С. 34-43.
4. *Барабой В.А.* Перекисное окисление и стресс. – М.: Наука, 2004. – 148с.
5. *Барабой В.А., Сутковой Д.А.* Окислительно-антиоксидантный гомеостаз в норме и патологии. – К.: Наукова думка, 1997. – 420 с.
6. *Басаргина Т.В.* Клинико-диагностическое значение показателей малонового диальдегида и общей антиоксидантной активности крови новорожденных с синдромом задержки внутриутробного развития // Актуальные проблемы здоровья семьи. – Иваново. – 2000. – С. 246 – 248.
7. *Бахта А.А.* Возрастные особенности антиоксидантного статуса организма собак // Ученые записки Казанской гос. академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – Казань. – 2006. – Т. 185.– С. 13 – 17.
8. *Бурмистр С.О.* Перекисное окисление липидов, белков и активность антиоксидантной системы сыворотки крови новорожденных и взрослых // Акушерство и гинекология. – 2002. – № 6. – С. 36 – 39.
9. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский Образовательный журнал. – 2000. – № 12. – С.13 – 19.

10. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. – 2001. – № 8. – С. 43 – 51.
11. *Воскресенский О.Н., Левицкий А.П.* Перекиси липидов в живом организме // Вопр. мед. химии. – 2003. – Т. 16, № 6. – С. 563-583.
12. *Горячева Л.Г., Rogozina Н.В., Говорова Л.В., Тихонова В.А.* Сравнительная характеристика показателей перекисного окисления липидов и протеолиза у детей с различным течением гепатита А // Инфектология. Достижения и перспективы. СПб. – 2003. – 68 с.
13. *Грачёва И.М.* Технология ферментных препаратов// Учебник для студентов ВУЗов/ гриф УМО/ – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Элевар, 2000. – 512с.
14. *Губерук В. О.* Перекісне окиснення ліпідів та антиоксидантна система захисту організму // Науковий вісник Львівського НУВМБТ ім. С.З. Гжицького. – 2008. – Т. 10, №. 3. – С. 38.
15. *Дворецкий Л.И.* Состояние процессов свободнорадикального перекисного окисления у больных железодефицитной анемией на фоне лечения препаратом Сорбифер Дурулес // РМЖ. – 2008. - №17. – С. 1116-1120.
16. *Дубинина Е.Е.* Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 108. – № 1. – С. 3 – 17.
17. *Дурнов Л.А., Байкова В.Н., Маякова С.А.* Особенности пероксидазного стресса у детей, проживающих на территории длительного низкоинтенсивного радиационного воздействия // Вопр. онкологии. – 2000. – Т. 46. – № 4. – С. 395 – 400.
18. *Зайцев В.Г., Закревский В.И.* Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградской медицинской академии. – Волгоград. – 2001. – С. 49 – 53.

19. Зозуля Ю.А., Боровой В.А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. – М.: Знание, 2000. – 344 с.

20. Иванова З.О. Малоновый диальдегид как показатель прооксидантной системы при пневмонии вирусной этиологии. //Актуальные вопросы теоретической и клинической медицины. –Нальчик. – 2008. – С.54 – 56.

21. Иванова З.О., Ахохова А.В. Показатели прооксидантной и антиоксидантной системы крови у здоровых людей // Наука о человеке.Материалы международного конгресса. – Томск. – 2007. – С.56 – 57.

22. Казимирко В.К., Мальцев В.И. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная терапия. – К.: Морион, 2004. –160с.

23. Кеня М.П., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи современной биологии. – 1993. – Т. 113, № 4. – С. 456-468.

24. Колісник М. І. и др. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин //Біологія тварин.–2009. – Т.11, №. 2. – С. 59-70.

25. Конторщикова К.Н. Перекисное окисление липидов в норме и патологии: Учебное пособие. – Н.Новгород. – 2000. – 23 с.

26. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Биологическая роль глутатиона // Успехи современной биологии. – 1990. – Т.110. – №1(4). – С. 20 – 33.

27. Курашвили Л.В., Косой Г.А., Захарова И.Р. Современное представление о перекисном окислении липидов и антиоксидантной системе при патологических состояниях // Методическое пособие. – Пенза: Инс-т усоверш. врачей МЗ РФ, 2003.– 41с.

28. Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н. Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. – Москва. – 2001. – 77с.
29. Луцкий М.А., Тонких Р.В., Золотарев О.В., Ананьева Е.С. Процессы свободнорадикального окисления липидов и белков в норме и патологии/ Актуальные вопросы неврологии. – Липецк. – 2007.– С. 430 – 435.
30. Меньшиков Е. Б., Ланкин В.З. Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
31. Нагоев Б.С. Содержание малонового диальдегида и церулоплазмينا в плазме крови у больных с пищевыми токсикоинфекциями / Б.С. Нагоев, М.Ю. Маржохова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 7. – С. 16 – 18.
32. 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.
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. Петрович Ю.А. Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патол. физиол. и эксперим. терапия, 2005. – № 5. – С. 85 – 92.
35. Проскурничий Е.А., Шалаев В.А., Андреева О.Л. Свободно-радикальное окисление липидов и уровень R-белков при неспецифическом аортоартерите и гипертонической болезни// Клиническая лабораторная диагностика. — 2001. – № 4. — С. 50 – 51.
36. Рогожин В.В., Курилюк Т.Т. Повышение чувствительности метода определения концентрации малонового диальдегида с помощью

тиобарбитуровой кислоты // Тезисы VII конференции «Аналитика Сибири и Дальнего Востока». Новосибирск. – 2004. – С. 90 – 96.

37. *Рокицкий П.Ф.* Биологическая статистика. – Минск: Высш. школа, 1973. – С. 320 – 329.

38. *Стальная И.Д., Горшвили Т.Д.* Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты // Современные методы в биохимии. – М.: Медицина, 1997. – С. 66 – 68.

39. *Тимочко М.Ф., Кобильська Л.І.* Вільнорадіальні реакції та їх метаболічна роль // Мед. Хімія, 2002. – Т. 1. – № 1. – С. 19 – 24.

40. *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.

41. *Beyer R. E.* The participation of coenzim Q in free radical production and antioxidation // Free Radic. Biol. Med. – 2004. – Vol. 8. – P. 545-565.

42. *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.

43. *Campo G.M., Squadrito F., Ceccarelli S.* Reduction of carbon tetrachloride-induced rat liver injury by IRFI 042, a novel dual vitamin E-like antioxidant // Free Radic. Res. 2001.– Vol. 34, № 4. – P. 379 – 393.

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

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

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

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

48. *Kim K.Y., Choi I., Kim S.S.* Progression of hepatic stellate cell activation is associated with the level of oxidative stress rather than cytokines during CC14-induced fibrogenesis. // *Mol. Cells*. 2000. – Vol. 10, № 3. – P. 289 – 300.

49. *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.

23.05.2016

