

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 «Особливості утворення продуктів перекисного окислення
ліпідів в органах щурів в нормі та при токсичному гепатиті»**

«The content of products of lipid peroxidation in organs of rats in norm and at a
pathology»

Виконала: студентка
заочної форми навчання
спеціальність 7.040102 Біологія
Григорьєва Анна Сергіївна

Науковий керівник: кандидат біологічних наук,
доцент Чернадчук Сніжана Сергіївна

Рецензент: кандидат біологічних наук, доцент
Якуба Ірина Петрівна

Рекомендовано до захисту:
Протокол засідання кафедри
№ _____ від «___» _____ р.
Завідуючий кафедрою
_____ Петров С.А.
(підпис) (прізвище, ініціали)

Захищено на засіданні ЕК № _____
протокол № _____ від «___» _____ р.
Оцінка _____
(за 4-х та за 100 бальною шкалою)
Голова ЕК _____ Філіпова Т.О.
(підпис) (прізвище, ініціали)

Анотація

Проведено дослідження вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів в тканинах щурів з токсичним гепатитом.

В результаті роботи було виявлено збільшення концентрації продуктів ПОЛ тканинах печінки та сироватці крові у тварин з гострим токсичним гепатитом. Найбільш виражені зміни відмічені через 72 години після введення CCl₄.

Кваліфікаційну роботу викладено на 41 сторінці друкованого тексту, вона включає 3 таблиці, 4 рисунка. В роботі наведено посилання на 40 публікацію вітчизняних та закордонних авторів.

Ключові слова: *токсичний гепатит, перекисне окиснення ліпідів, активні форми кисню.*

A study of the content of products of lipid peroxidation in tissues of rats with toxic hepatitis.

The result revealed an increase in the concentration of peroxidation products in liver tissue and blood serum from animals with acute toxic hepatitis. The most marked changes after 72 hours after administration CCl₄.

Diploma thesis is expounded on 41 pages, it contains 3 tables and 4 figures. It provides links to 40 references (37 cyrillic and 3 latinic).

Key words: *toxic hepatitis, lipid peroxidation, reactive oxygen species.*

ЗМІСТ

ВСТУП	5
1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1. 1. Молекулярна організація ланцюга біологічного окислення	7
1.2. Класифікація і властивості активних форм кисню	12
1.3. Вільнорадикальне окислення в біологічних мембранах	18
1.4. Продукти перекисного окислення ліпідів	22
1.5. Характеристика гострого токсичного гепатиту	24
2. МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	26
2. 1. Матеріал дослідження	26
2. 2. Методи дослідження	26
2.2.1. Визначення вмісту малонового діальдегіду	26
2.2.2. Визначення вмісту дієнових кон'югатів	27
2. 3. Статистична обробка результатів	28
3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	29
3.1. Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів в тканинах контрольної групи щурів	29
3.2. Вміст продуктів перекисного окислення ліпідів в тканинах щурів при токсичному гепатиті	30
УЗАГАЛЬНЕННЯ	35
ВИСНОВКИ	37
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	38

ПРИЙНЯТІ СКОРОЧЕННЯ ТА АБРЕВІАТУРИ

АОС - антиоксидантна система;

АФК - активні форми кисню;

ГЗП- гіпоксія замкненого простору;

ПОЛ - перекисне окислення ліпідів;

ДК - дієнові кон'югати;

МДА - малоновий діальдегід;

ШО – основи Шиффа

ВСТУП

Вивчення перекисного окислення ліпідів почалося з появи теорії вільнорадикального ланцюгового окислення ненасичених жирних кислот у клітині. На зміну їй прийшла теорія розгалужених ланцюгових реакцій, а в 50-60-ті роки минулого сторіччя основною стала гіпотеза про те, що різноманітні шкідливі впливи на живу клітину виявляються пероксидацією ліпідів мембран. Подальші дослідження процесів пероксидації засвідчили, що в організмі діє ланцюг взаємопов'язаних вільнорадикальних реакцій, швидкість яких підтримується на оптимальному рівні за допомогою складних і різноманітних механізмів регуляції. Процеси перекисного окислення, які потрібні для нормального функціонування біохімічних і фізіологічних систем, у нормі невинно перебігають у всіх клітинах живих організмів і є одним із типів нормальних метаболічних процесів, таких як синтез деяких гормонів, медіаторів, ейкозаноїдів, нуклеїнових кислот, окиснювальне фосфорилування, іонний транспорт, клітинний поділ [3,4].

У процесі розвитку деяких патологічних процесів різко підвищується інтенсивність ліпопероксидації, що робить її універсальним механізмом пошкодження клітинних мембран. Продукти перекисного 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 [9,10].

За даними літератури, відомо, що головним звеном системних функціональних та метаболічних розладів при гіпоксіях різного генезу є активація вільнорадикального окислення, а саме, ліпопероксидація [3, 12, 18, 23, 25, 26, 28].

Таким чином, актуальність досліджень реакції перекисного окислення ліпідів обумовлена важливої патогенетичною роллю вільнорадикального

окислення як потужного фактора мембранодеструкції, а значить більшості патологічних процесів [1, 2, 22].

Мета роботи - з'ясувати особливості оксидантного ураження печінки в динаміці експериментального гепатиту.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні завдання:

1. Дослідити вміст дієнових кон'югатів та рівня малонового діальдегіду у тканинах контрольної групи щурів.
2. Дослідити стан вільнорадикальних процесів у тканинах щурів з токсичним гепатитом.
3. Оцінити зміни показників у щурів з токсичним гепатитом у порівнянні з показниками контрольних щурів.

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

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

УЗАГАЛЬНЕННЯ

За даними різних авторів, у етіологічній класифікації захворювань печінки токсичні гепатити і цирози посідають друге місце після гепатитів вірусної етіології. Ряд наукових праць присвячено вивченню. Патології печінки залежно від ушкоджуючого фактору, при цьому науковцями наводяться дані, які свідчать про багатогранність порушень, що відбуваються.

Встановлено, що хімічне пошкодження печінки, викликане тетрахлоретаном супроводжується не лише специфічними морфологічними змінами тканини печінки, а й типовими неспецифічними ультраструктурними проявами, які включають пошкодження мембран ендоплазматичного ретикулума, мітохондрій, лізосом та ін.

Для мембранної патології гепатоцитів особливе значення має здатність виникнення вільних радикалів у мембранах ендоплазматичного ретикулуму при біотрансформації мікросомальними оксигеназами деяких ксенобіотиків, які є гепатотропною отрутою. Вільні радикали утворюються як проміжні метаболіти при відновлювальному дегалогенуванні тетрахлоретану, хлороформу та інших галоалканів. Окислення багатьох чужорідних хімічних сполук, зокрема, тетрахлоретану призводить до утворення супероксидного аніон-радикала.

Питання щодо локального та загального кисневого балансу при токсичних гепатитах досліджено недостатньо, отримані результати мають суперечливий характер. Нез'ясованими залишаються аспекти хронофізіології та хронофармакології токсичних гепатитів.

Отже, результати досліджень свідчать про те, що введення CCl_4 піддослідним тваринам призводить до суттєвих змін концентрації продуктів ПОЛ. Спостерігається збільшення вмісту ДК іМДА в сироватці та тканинах печінки. Найбільш виражені зміни відбуваються через 72 години після ураження.

Таким чином, отримані результати свідчать, що пусковим механізмом негативної дії CCl_4 на структуру та функції гепатоцитів є надлишкове накопичення токсичних продуктів пер оксидації ліпідів і функціональна неспроможність механізмів антиоксидантного захисту клітин. Подальші дослідження цього напрямку дозволять підвищити ефективність існуючого лікування гострих токсичних гепатитів, запобігти розвитку можливих уражень.

ВИСНОВКИ

1. Токсичне ураження, спричинене CCl_4 , призводить до суттєвих змін концентрації продуктів ПОЛ. Спостерігається збільшення вмісту ДК і МДА в сироватці крові і печінці.

2. Через 72 години, після ураження CCl_4 , спостерігали найбільш виражене збільшення ДК та МДА в сироватці крові та тканинах (в 2 – 2,5 рази) по відношенню до контрольних значень.

3. Сьома доба (168 годин) розвитку токсичного гепатиту характеризувалася відносним зниженням інтенсивності утворення продуктів ПОЛ в тканинах печінки та в сироватці крові, порівняно з даними, встановленими через 72 години експерименту.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Абрамова Ж.И., Оксенгендлер Г.И.* Человек и противомокислительные вещества. – Л.: Наука, 2000. – 230 с.
2. *Алукхання 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. *Барабой В.А.* Механизмы стресса и перекисное окисление липидов // Успехи соврем. Биологии. - 1991. - Т. 111, № 6. - С. 923-931.
4. *Барабой В.А.* Перекисное окисление и стресс. - М.: Наука, 2004. - 148с.
5. *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.
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. *Бурлакова Е.Б.* Перекисное окисление липидов мембран // Успехи химии. - 2004. - Т. 54. - С. 1540-1558.
10. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы в биологических системах // Соросовский Образовательный журнал. – 2000. – № 12. – С.13 – 19.

11. *Владимиров Ю.А.* Свободные радикалы и антиоксиданты // Вестник РАМН. – 2001. – № 8. – С. 43 – 51.
12. *Владимиров Ю.А.* Перекисное окисление липидов в биомембранах - М.: Наука, 2003. – С. 230-272.
13. *Грачёва И.М.* Технология ферментных препаратов// Учебник для студентов ВУЗов/ гриф УМО/ – 3-е изд., перераб. и доп. – М.: Элевар, 2000. – 512 с.
14. *Горячева Л.Г., Rogozина 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.
15. *Дубинина Е.Е.* Биологическая роль супероксидного анион-радикала и супероксиддисмутазы в тканях организма // Успехи современной биологии. – 2004. – Т. 108. – № 1. – С. 3 – 17.
16. *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.
17. *Зайцев В.Г., Закревский В.И.* Методологические аспекты исследований свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма // Вестник Волгоградской медицинской академии. – Волгоград. – 2001. – С. 49 – 53.
18. *Зенков Н.К., Ланкин В.З., Меньщикова Е.Б.* Окислительный стресс - М.: Наука, 2004. – 343 с.
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., Ахохова А.В.* Показатели прооксидантной и антиоксидантной системы крови у здоровых людей // Наука о

человеке. Материалы международного конгресса. – Томск. – 2007. – С.56 – 57.

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

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

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

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

25. *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 усовершенств. врачей МЗ РФ, 2003. – 41с.

26. *Ланкин В.З., Тихазе А.К., Беленков Ю.Н.* Свободнорадикальные процессы в норме и при патологических состояниях. – Москва. – 2001. – 77 с.

27. *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.

28. *Меньшиков Е. Б., Ланкин В.З.* Окислительный стресс. Прооксиданты и антиоксиданты. – М.: Слово, 2006. – 556 с.

29. *Нагоев Б.С., Маржохова М.Ю.* Содержание малонового диальдегида и церулоплазмينا в плазме крови у больных с пищевыми токсикоинфекциями // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 7. – С. 16 – 18.

30. *Петров С.А.* Регуляция тиамином и его метаболитами процессов образования и обмена аминокислот и кетокислот в организме: автореф. дисс.

на соискание степени док. биол. наук: спец. 03.00.04 «Биохимия». – Минск, 1992. – 42 с.

31. *Петров С.А.* Некоферментные эффекты тиамина и его метаболитов // Биомедицинская химия. – 2006. – Т. 52, вып. 4. – С. 335-345.

32. *Петрович Ю.А.* Свободнорадикальное окисление и его роль в патогенезе воспаления, ишемии и стресса // Патол. физиол. и эксперим. терапия, 2005. – № 5. – С. 85 – 92.

33. *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.

34. *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.

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

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

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

38. *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.

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

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