

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии

Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

_____ Е.И. Шишацкая

« » июня 2021 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Уровень перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных
ферментов при колоректальном раке

Научный руководитель _____доцент, канд.биол. наук Н.М. Титова

Выпускник _____ Р.А. Рочева

Красноярск 2021

Содержание

Реферат	3
Введение.....	4
1 Обзор литературы	6
1.1 Активные формы кислорода.....	6
1.2 Перекисное окисление липидов	9
1.3 Антиоксидантная система.....	12
1.3.1 Супероксиддисмутаза.....	15
1.3.2 Каталаза	16
1.4 Колоректальный рак.....	17
2 Материалы и методы	20
2.1 Объект исследования	20
2.2 Приготовление упакованных эритроцитов	20
2.3 Определение концентрации гемоглобина	21
2.4 Определение концентрации малонового диальдегида.....	22
2.5 Определение активности супероксиддисмутазы.....	24
2.6 Определение активности каталазы	25
2.7 Статистическая обработка результатов.....	26
3 Результаты исследования и их обсуждения.....	28
Заключение	33
Список использованных источников	34

Реферат

Выпускная квалификационная работа по теме «Уровень перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных ферментов при колоректальном раке» содержит 38 страниц текстового документа, одного рисунка, 7 таблиц, 40 использованных источников.

Ключевые слова: колоректальный рак, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксидантная система, малоновый диальдегид, супероксиддисмутаза, каталаза.

Объект исследования – эритроциты больных колоректальным раком.

Целью данной работы явилось изучение состояния прооксидантной и антиоксидантной систем по уровню малонового диальдегида, активности супероксиддисмутазы и каталазы у больных колоректальным раком.

Исходя из цели, были выдвинуты следующие задачи:

1. Исследовать содержание малонового диальдегида в эритроцитах больных колоректальным раком до лечения, после оперативного вмешательства и после химиотерапии.

2. Определить активность антиоксидантных ферментов у больных колоректальным раком до лечения, после операции и после химиотерапии.

Установлено, что в эритроцитах больных колоректальным раком как до лечения, так и после оперативного вмешательства и химиотерапии уровень продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида существенно и достоверно превышает контрольный показатель.

Активность антиоксидантных ферментов изменяется противоположным образом, проявляя тенденция к повышению у супероксиддисмутазы и снижению у каталазы по сравнению с контролем.

Введение

Колоректальный рак (КРР) – это опухолевый процесс, возникающий в ткани толстой, а также прямой кишки. Ежегодно диагностируется около миллиона новых случаев заболевания, что делает КРР третьей по распространенности злокачественной опухолью в патологии человека во всем мире и второй по значимости причиной смерти от злокачественных заболеваний[1]. За последние несколько десятилетий в нашей стране увеличилась заболеваемость раком толстой кишки. Рост заболеваемости раком прямой кишки и смертности от него делает **актуальным** исследование данной проблемы и поиск новых методов ранней диагностики и лечения.

В различных публикациях рассматривается роль окислительного стресса в патогенезе и развитии КРР человека. Желудочно-кишечный тракт особенно подвержен атаке активных форм кислорода, которые приводят к канцерогенезу. Однако информации о биохимических изменениях в тканях и крови недостаточно.

Заболеваемость КРР неуклонно растет во всем мире, особенно в развивающихся странах, которые принимают "западный" образ жизни. Ожирение, малоподвижный образ жизни, потребление красного мяса, клетчатки, алкоголя и табака считаются движущей силой роста КРР.

Целью данной работы явилось изучение состояния прооксидантной и антиоксидантной систем по уровню малонового диальдегида, активности супероксиддисмутазы и каталазы у больных колоректальным раком. Исходя из цели, были выдвинуты следующие задачи:

1. Определить содержания малонового диальдегида в эритроцитах у больных колоректальным раком до лечения, после оперативного вмешательства и после химиотерапии.

2. Определить активность антиоксидантных ферментов в эритроцитах у больных колоректальным раком до лечения, после оперативного вмешательства и после химиотерапии.

Работа является частью комплексного изучения состояния свободнорадикальных процессов и антиоксидантной системы в норме и при различных заболеваниях. Выпускная квалификационная работа – результат совместных исследований, проводимых Кафедрой медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета и КГБУЗ «Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского».

1 Обзор литературы

1.1 Активные формы кислорода

Активные формы кислорода (АФК) - это продукты неполного восстановления кислорода, содержащие неспаренные электроны. Из-за этого они являются весьма реактивными. Большая часть поступающего O_2 (95-98%) расходуется на внутриклеточные процессы, остальная часть (2-5%) превращается в активные формы кислорода [2, 3]. Среднее содержание реактивных форм кислорода в тканях человека составляет 10-8 мМ.

Свободные радикалы образуются в клетке во время нормального клеточного метаболизма. Эти высоко действующие радикалы происходят как из внутренних, так и из внешних источников. Внутренние источники в основном включают митохондрии, воспалительные клетки и несколько энзиматических клеточных комплексов; внешние источники включают про-окислительные экологические токсины, радиацию и различные химические соединения, в том числе алкоголь, курение табака, и некоторые наркотики. Такие свободные радикалы могут нанести ущерб различным важным биомолекулам, включая липиды, белки и нуклеиновые кислоты, что приводит к окислительному стрессу и повреждению различных тканей человека [4].

Часть АФК могут опосредовать важнейшие сигнальные пути внутри клетки. Активные формы кислорода участвуют (через АФК-зависимый сигналинг) в регуляции клеточных процессов, таких как клеточное деление, дыхание и т.д.. А также активируют иммунные реакции лейкоцитов, например, клетки крови в месте повреждения начинают вырабатывать АФК, которые привлекают тромбоциты, необходимые для начала процесса заживления. Помимо этого оказывают бактерицидное действие.

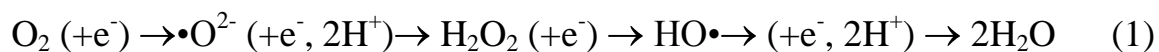
Самыми важными АФК являются: супероксидный радикал, синглетный кислород, гидроксильные и пероксидные радикалы, пероксид водорода, пероксид-ион, гипохлорит.

Синглетный кислород является наиболее реакционноспособным, и все остальные АФК могут быть образованы из синглетного кислорода с помощью одноэтапного переноса электронов. Супероксидный радикал-это одно электронное восстановление синглетного кислорода, тогда как пероксид водорода, другой вредный АФК, является одним электронным восстановлением супероксидного радикала. В живых клетках перекись водорода играет жизненно важную роль в защите от некоторых инфекций, а также в клеточной сигнализации в киназных путях, связанных с миграцией клеток в защите от некоторых инфекций, а также в клеточной сигнализации в киназных путях, связанных с миграцией и пролиферацией клеток. АФК в живых клетках включают гидроксильные радикалы, обычно возникающие в результате реакций типа Фентона, оксид азота и полученный из оксида азота пероксинитрит, хлорную кислоту, которая действует в качестве предшественника для многих сильных окисляющих видов[5].

Дисфункция электронно-транспортных цепей митохондрий при низких концентрациях АДФ приводят к образованию реактивных форм кислорода[6].

Одним из свойств свободных радикалов является их высокая химическая активность. Они способны повреждать различные липиды, белки и нуклеиновые кислоты. В результате нарушения структуры мембран из-за появления гидропероксидов жирных кислот клетка может пропускать молекулы H_2O , а также Na^{2+} , Ca^{2+} , приводящие к разрушению клеток.

В норме при 4-х электронном восстановлении кислорода образуется вода. Поэтапное восстановление может приводить к образованию активных форм кислорода (1).



Действительно, когда в растворах биоорганических соединений развиваются свободнорадикальные реакции, несколько исходных свободных

радикалов могут повредить огромное количество биомолекул. Вот почему в биохимической литературе АФК традиционно считаются чрезвычайно опасными частицами.

В процессе присоединения электрона к молекуле O_2 образуются супероксид-анион-радикал $O_2^{\bullet-}$ и гидроперекисный радикал HO_2^{\bullet} ; оба дают начало ряду других АФК. Образование супероксидного радикала происходит во время случайных сбоев в цепи переноса электронов, когда не хватает кислорода [6].

Генерация радикала $\bullet OH$ наблюдалась под действием гемоглобина на перекись водорода [7]. При инкубации гемоглобина с перекисью водорода в растворе происходит образование гидроксильных радикалов в результате взаимодействия перекиси водорода с ионами железа (реакция Фентона), выделяющимися из гемоглобина под действием H_2O_2 . Но эти данные были получены в модельных экспериментах в условиях использования высоких концентраций перекиси водорода по отношению к гемоглобину [8].

Уровень АФК определяет физиологические эффекты. В то время как высокий уровень АФК может привести к повреждению тканей и гибели клеток, низкий уровень может иметь эффект пролиферации [9]. Низкие уровни АФК играют важную роль в регулировании биологических функций в клетках млекопитающих. Тем не менее, избыточное производство может вызвать гибель клеток путем окислительного разрушительного воздействия на внутриклеточные биоматериалы [10].

В раковых клетках огромное количество АФК может быть результатом повышенной метаболической активности, митохондриальной дисфункции, пероксисомной активности, повышенной сигнализации клеточных рецепторов, онкогенной активности, повышенной активности оксидаз, циклоксигеназ, липоксигеназ и тимидина фосфорилазы [11].

Сообщалось, что окислительные события, связанные со стрессом, влияют на раковые клетки. Например, АФК в раке участвуют в прогрессировании и распространении клеточного цикла, выживании клеток и

апоптозе, энергетическом метаболизме, клеточной морфологии, клеточной адгезии, подвижности клеток, ангиогенезе и поддержании стволовых клеток опухоли.

Окислительная модификация белков реактивными видами вовлечена в этиологию или прогрессирование различных расстройств и заболеваний. Основным повреждением АФК для белков является изменение их аминокислотных остатков, что приводит к изменению функций. Некоторые модификации, вызванные АФК, также увеличивают карбонилирование белка, нитрат тирозина и фенилаланина, деградацию белка или могут привести к образованию перекрестных и гликированных белков. Окисленные аминокислотные остатки белков могут влиять на их способность в механизмах передачи сигнала. Например, необратимое окисление фосфатов в каталитических участках препятствует их энзиматической активности. Окислительные изменения ферментов также влияют на эффективность восстановления ДНК, верность полимеразы ДНК во время репликации/синтеза и транскрипционные действия, которые тесно связаны с началом рака.

1.2 Перекисное окисление липидов

Окислительный стресс является одним из механизмов, участвующих в процессе канцерогенеза. Активные промежуточные продукты, продуцируемые оксидативным стрессом, изменяют структуру мембраны и вызывают перекисное окисление липидов (ПОЛ).

ПОЛ – физиологический процесс, который осуществляется по механизму цепной реакции, что приводит к накоплению различных продуктов, таких как малондиальдегид, 4-гидроксиноненаль или акролеин. Малоновый диальдегид (МДА) один из наиболее распространенных и наиболее вредных продуктов перекисного окисления липидов, который может привести к повреждению клеток, вступая в реакцию со свободными аминокислотными группами белков и нуклеиновых кислот[12].

Липоперекиси негативно влияют на клетку двумя способами. Поскольку липиды отвечают за поддержание целостности клеточных мембран, интенсивное перекисное окисление липидов изменяет сборку, состав, структуру и динамику липидных мембран. Будучи высокореактивными соединениями, перекиси липидов также способны распространять дальнейшее производство АФК или распадаться на реактивные соединения, способные сшивать ДНК и белки.

Перекисное окисление липидов преимущественно окисляет полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК), например, линолевую, арахидоновую и докозагексаеновую кислоты. Наиболее подвержены перекисному окислению ПНЖК, которые содержат пентадиеновую часть [13].

Перекисное окисление мембранных фосфолипидов является распространенным механизмом модификации и деструкции мембран, его усиление выявляется при развитии большого количества патологических состояний [14]. Известно, что перекисное окисление мембранных липидов существенно изменяет физические свойства липидных бислоев. В частности, перекисное окисление изменяет липид-липидные взаимодействия, градиенты ионов, текучесть мембран и проницаемость мембран [12].

Процесс ПОЛ осуществляется по механизму цепной реакции, что приводит к накоплению различных липопероксидов - относительно стабильных соединений [17]. Последние вызывают нарушение упаковки мембраны и попадание воды и других гидрофильных молекул в область дефектов мембраны [15].

Скорость липопероксидации для поврежденных мембран зависит от природы субстрата (от ненасыщенности жирных кислот, расположения двойных связей и т.д.), от температуры, а также от присутствия катализаторов в системе (рис. 1). Эти свободнорадикальные реакции эффективно ингибируются различными антиоксидантами [8].

В неповрежденных мембранах липиды эффективно защищены от неферментативного окисления за счет структуры мембранного бислоя и

антиоксидантных систем, которые регулируют содержание активных форм кислорода[16].

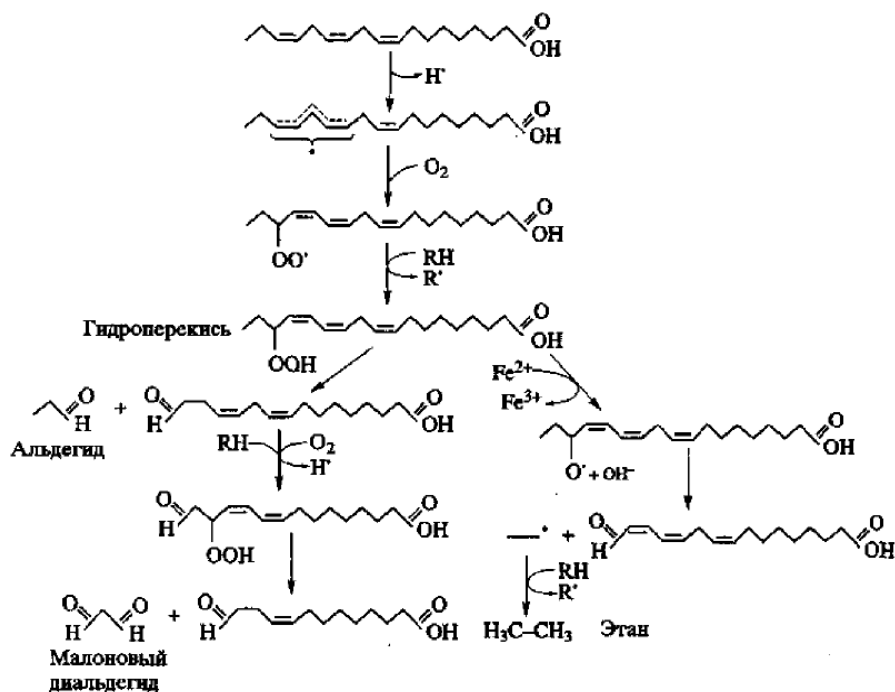


Рисунок – 1 Схема, изображающая свободнорадикальное окисление линолевой кислоты [8]

Очищение мембраны от поврежденных фосфолипидов обычно осуществляется с помощью таких ферментов, как фосфолипаз и глутатионпероксидаз. Присутствие гидропероксидов в структуре бислоя мембраны вызывает введение в область недостатков мембраны гидрофильных соединений, в том числе ионов кальция, активирующих фосфолипазу. Кроме того, окисленные фосфолипиды являются более предпочтительным субстратом для мембранной фосфолипазы A2, чем нативные. Фосфолипиды, содержащие полиненасыщенную арахидоновую кислоту, окисляются легче. Высвобождение арахидоновой кислоты позволяет использовать ее для образования биологически активных

соединений. Эта избирательность фосфолипазы имеет большое физиологическое значение для процессов восстановления мембраны[17].

Функции перекисного окисления липидов в норме:

1. Вызывает апоптоз.
2. Регулирует структуру клеточных мембран и работу ионных каналов, рецепторов и ферментов.
3. Делает возможным выход арахидоновой кислоты из мембран для синтеза эйкозаноидов.
4. ПОЛ может действовать как вторичный мессенджер для передачи внутриклеточного сигнала из внешней среды.

Отрицательные последствия активации перекисного окисления липидов:

1. Повреждение липидного бислоя мембран и нарушение их полупроницаемости.
2. Преждевременное старение клеток и организма в целом.
3. Изменение текучести мембран и нарушение их транспортной функции.
4. Нарушение активности мембранно-связанных ферментов и гормонов.

1.3 Антиоксидантная система

Продукцию реактивных форм кислорода можно рассматривать во многих метаболических процессах. Р и развитие клеток, а так же организма в целом, в аэробном мире не могло бы быть возможным без существования защитных систем, основанных на антиоксидантах [18], которые в свою очередь разделяются на ферментативные и неферментативные.

Антиоксидант – это вещество, присутствующее в небольших концентрациях в организме, которое помогает предотвратить окисление субстрата и играет важную роль в механизме защиты организма от активных

форм кислорода. Антиоксиданты могут предотвращать окисление субстратов даже в низких концентрациях[19].

Антиоксиданты имеют широкий спектр эффектов в различных условиях заболевания и помогают предотвратить наступление таких состояний. Природные антиоксиданты, которые встречаются в организме могут бороться против окислительного стресса, который происходит через различные физиологические процессы. К ним относятся антиоксидантные ферменты, такие как каталаза, супероксид дисмутаза, глутатионпероксидаза.

Ферментные антиоксиданты являются лучшими, потому что они образуются организмом независимо. Их высокая эффективность обусловлена тем, что они образуются внутри клеток, и для них нет необходимости проникать через мембраны клеток.

Эти молекулы коллективно действуют против свободных радикалов, чтобы противостоять их разрушительному воздействию на жизненно важные биомолекулы и, в конечном счете, ткани организма. Основываясь на их реакции на общее вторжение свободных радикалов, они могут быть классифицированы на первую, вторую, третью и даже четвертую линию защиты антиоксидантов. Супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза входят в первую линию защиты, которая является важной для устранения супероксидного радикала, образующегося через митохондриальный путь производства энергии [20].

В клетках необходима постоянная регенерация антиоксидантной способности для саморегуляции между окислителями и антиоксидантами. Если происходит сбой, то накапливаются окислительные повреждения, которые приводят к оксидативному стрессу[21].

АОС ограничивает интенсивность реакции свободнорадикального и перекисного окисления. Кроме этого защищает биомолекулы от стресса, а также восстанавливать окислительные молекулярные повреждения [12]. В целом, основная задача системы антиоксидантной защиты состоит в

предотвращении и ограничении развития патологических состояний, вызываемых окислительными повреждениями структур организма [1].

Антиоксиданты - это вещества, которые могут блокировать реакции окисления свободных радикалов. Когда они сталкиваются со свободными радикалами, они отдают им свой электрон, завершая свою структуру в законченную молекулу и, следовательно, лишая их желания отнять недостающий электрон из других молекул и клеток на этом пути. Какие неферментативные антиоксиданты самые лучшие?

1. Коэнзим Q10 - это молекула «кода молодости» кожи. Обеспечивает стабильную выработку энергии в митохондриях клеток и защищает их от окислительных атак.

2. Ликопин прекращает образование радикалов, защищает кожу от УФ-лучей и подавляет воспаление.

3. Альфа-липоевая кислота, или тиоктовая кислота, нейтрализует свободные радикалы и восстанавливает в организме уровень трех антиоксидантов - аскорбиновой кислоты, токоферола и глутатиона.

4. Ресвератрол способствует регенерации клеток, поврежденных радикалами, поскольку активизирует сиртуины - белки, восстанавливающие клетки. Проявляет себя как антисептик, снижает риск ракового перерождения клеток, снижает концентрацию холестерина в крови.

5. Глутатион вырабатывается печенью из трех аминокислот - глицина, цистеина и глутаминовой кислоты. Он находится в организме в двух формах - восстановленной и окисленной. Выполняется восстановленная антиоксидантная функция. Именно его уровень определяет «защитный статус организма».

6. Витамин С активизирует синтез коллагена, нормализует проницаемость, а также гибкость капилляров. Помимо это продлевает жизнь другим антиоксидантам - селену, ретинолу, токоферолу.

7. Витамин Е - мощный антиоксидант, защищающий клеточные мембраны.

1.3.1 Супероксиддисмутаза

Супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1, супероксид: супероксидоксидоредуктаза, СОД) является первым ферментом детоксикации и самым мощным антиоксидантом в клетке. Это важный эндогенный антиоксидантный фермент, который действует как компонент системы защиты первой линии от активных форм кислорода. Он катализирует дисмутацию двух молекул супероксид-аниона до пероксида водорода и молекулярного кислорода, последовательно делая потенциально опасный супероксид-анион менее опасным, тем самым останавливая процесс канцерогенеза [17,22]:



СОД повсеместно существует в эукариотах и прокариотах. Имеет молекулярную массу 32 кДа и состоит из двух субъединиц, каждая из которых содержит по одному иону металла. Супероксидные дисмутазы используют ионы металла, такие как медь (Cu^{2+}), цинк (Zn^{2+}), марганец (Mn^{2+}) или железо (Fe^{2+}) в качестве кофакторов. Различные изоферменты СОД расположены в разных частях клетки и очень специфичны в регулировании связанных биологических процессов [13]. В клетках млекопитающих есть три изоформы СОД: цитоплазмическая Cu/Zn –СОД (СОД 1), митохондриальная Mn – СОД (СОД 2) и внеклеточная Cu/Zn–SOD (СОД 3)[23].

Комплексы меди с аминокислотами и пептидами, а также многие медьсодержащие белки могут проявлять активность супероксиддисмутазы.

Озвученные ранее изоферменты являются внутриклеточными ферментами, вне клетки такие ферменты разрушаются за 5-10 минут. Однако была обнаружена внеклеточная высокомолекулярная форма СОД с молекулярной массой 12 кДа. Присутствует в различных организмах как тетрамер [24,25]. Каждый тетрамер состоит из двух димеров, связанных через дисульфидный мостик. Экстрацеллюлярная СОД не связывается с лейкоцитами и эритроцитами, не участвует в регуляции продукции активных

форм кислорода гранулоцитами в процессе киллинга[26]. Ее функция - это локально защищать эндотелиоциты от повреждения АФК [27,28]

В реакции, катализируемой СОД, наряду с O_2 образуется активная, нерадикальная молекула пероксида водорода, которая восстанавливается до воды в основном каталазой и глутатионпероксидазой [20].

Следовательно, супероксиддисмутаза необходима для нормального функционирования клеток, органов и тканей, защищая их от избыточных кислородных радикалов, свободных радикалов и других вредных агентов, которые способствуют старению или гибели организма. Активность и уровень СОД с возрастом снижаются, в то время как образование свободных радикалов увеличивается[20].

1.3.2 Каталаза

Каталаза (КФ1.11.1.6, $H_2O_2:H_2O_2$ -оксидоредуктаза, КАТ)– хромопротеин с молекулярной массой около 240 кДа, состоит из 4 субъединиц, каждая из которых содержит в качестве простетической группы гем. Каталаза является распространенным антиоксидантным ферментом, присутствующим почти во всех живых тканях, которые используют кислород. Фермент использует железо или марганец в качестве кофактора и катализирует деградацию или восстановление перекиси водорода в воду и молекулярный кислород, следовательно, завершая процесс детоксикации, имитируемый СОД.

КАТ очень эффективен; он может расщеплять миллионы молекул перекиси водорода за одну секунду[17]. Такая высокая скорость реакции необходима для удаления активного кислорода и защиты компонентов клетки от окислительного действия.

Находится этот фермент в большинстве эукариот в цитозоле и пероксисомах. Каталаза разрушает перекись водорода только там, где концентрация ее велика, т.е. в пероксисомах.

Каталаза разлагает перекись водорода в два этапа:

Fe^{3+} -каталаза + $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow$ окисленная каталаза + $\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+}$ -каталаза + $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{O}_2$.

Субстратами для окисленной формы каталазы служат доноры водорода, например этанол [29,30].

Известно, что в процессе разложения перекиси водорода вновь генерируются активные формы кислорода меньше 1% .

Перекись водорода обычно регулирует некоторые физиологические процессы при низких концентрациях, такие как передача сигналов во время пролиферации клеток, гибель клеток, углеводный обмен, функция митохондрий, активация тромбоцитов и поддержание нормального окислительно-восстановительного баланса тиолов [31], однако в высоких концентрациях, она очень вредна для клеток[32]. Большое количество каталазы содержится в эритроцитах для защиты гема гемоглобина от окисления. Таким образом, способность КАТ эффективно ограничивает концентрацию H_2O_2 в клетках подчеркивает его важность в вышеупомянутых физиологических процессах. Каталаза является ферментом второй линии антиоксидантной защиты. Дефицит фермента или мутация связаны с различными заболеваниями и аномалиями[33].

1.4 Колоректальный рак

Колоректальный рак – опухолевый процесс, возникающий в ткани толстой, а также прямой кишки. На протяжении десятков лет отмечается существенный рост динамики данного заболевания. Ежегодно ставится около миллиона новых случаев заболевания, что делает КРР третьей по распространенности злокачественной опухолью в патологии человека во всем мире и второй по значимости причиной смерти от злокачественных заболеваний[1].

Заболеваемость КРР неуклонно растет во всем мире, особенно в развивающихся странах, которые принимают "западный" образ жизни.

Ожирение, малоподвижный образ жизни, потребление красного мяса, клетчатки, алкоголя и табака считаются движущей силой роста КРР [32,34, 35].

КРР чаще всего начинается с нераковой пролиферации слизистых эпителиальных клеток. Эти нарастания известны как полипы и могут расти постепенно в течение 10-20 лет, прежде чем стать раковым. Наиболее распространенной формой является полип. Он возникает из гранулированных клеток, функция которых заключается в производстве слизи, которая всасывается толстую кишку. Только около 10% всех аденом прогрессируют до инвазивного рака. Однако когда полип становится больше, риск рака увеличивается. Инвазивный рак, возникающий в результате таких полипов, известен как аденокарцинома и составляет 96% всех случаев КРР.

Половина случаев развития КРР связана с образом жизни, а также длительным воздействием канцерогенов[36], еще около $\frac{1}{4}$ - с генетическими факторами[37].

Колоректальный рак подразделяется на стадии заболевания. Стадия рака зависит от размера опухоли, ее распространения на окружающие лимфатические узлы и наличия отдаленных метастазов.

- I-я стадия: Проращение злокачественной опухоли в мышечный слой толстой кишки (прямой кишки);
- II-я стадия: Новообразование располагается либо в пределах внешнего слоя толстой (или прямой) кишки, либо проросло за ее пределы;
- III-я стадия: Распространение злокачественных клеток в один или более лимфоузлов;
- IV-я стадия: Метастазирование в соседние части тела

Продолжительность жизни больных КРР, главным образом, связана со степенью распространенности опухоли, наличием метастазов. В случае выявления рака на I стадии пятилетняя выживаемость составляет 93%, однако по мере прогрессирования заболевания наблюдается значительное снижение выживаемости. На второй стадии заболевания пятилетняя

выживаемость снижается до 72%, на третьей стадии выживаемость не превышает 45%, а на четвертой - пятилетняя выживаемость составляет 8%[11].

I-II стадии могут не беспокоить. Но в дальнейшем симптомы зависят от локализации и особенностей роста новообразования. Одним из первых признаков колоректального рака часто является боль в животе, которая более выражена при раке левой половины кишечника (особенно толстой кишки).

Кровотечение – наиболее распространенное осложнение КРР. Оно у большей части пациентов. В большинстве случаев наблюдаются небольшие и повторяющиеся кровопотери, приводящие к развитию железодефицитной анемии. Очень редко возможно обильное кровотечение, представляющее угрозу для жизни пациента. Часто при поражении левых отделов сигмовидной кишки развивается кишечная непроходимость. Еще одно серьезное осложнение рака толстой кишки - перфорация стенки кишечника.

Новообразования из нижнего отдела толстой кишки могут поражать соседние органы, а воспаление в области опухоли может привести к гнойному поражению окружающих тканей. Перфорация толстой кишки при раке толстой кишки верхнего отдела кишечника приводит к развитию перитонита. Осложнения значительно увеличивают риск операции[38].

Основной метод лечения хирургический, но может применяться и комбинация методов: лучевая и химиотерапия в зависимости от конкретной ситуации. Последовательность и способы воздействия на опухоль определяет консилиум врачей.

XELOX - это комбинация химиотерапевтических препаратов, также известных как CAPOX, CAPE-OX или OxCap. Состоит из оксалиплатина (элоксатина) и капецитабина (кселода). Эти химиотерапевтические препараты разрушают быстро делящиеся клетки, особенно раковые. Химиотерапия XELOX проводится циклами лечения, каждый продолжительностью 3 недели (21 день). В зависимости от потребностей пациенты могут пройти от 6 до 8 циклов.

2 Материалы и методы

2.1 Объект исследования

В качестве объекта исследования служили эритроциты здоровых людей - 25 человек и людей больных колоректальным раком до и после операции (25 человек). Возраст больных варьировал от 47 до 82 лет, средний возраст составил $66,5 \pm 6,5$ лет. От каждого пациента было получено подписанное информированное согласие на участие в исследовании.

2.2 Приготовление упакованных эритроцитов

- 1) Кровь центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин.
- 2) Плазму осторожно удаляли, а эритроциты пять раз отмывали холодным раствором 0,9%-ного NaCl, каждый раз центрифугируя при вышеназванных условиях, надосадочную жидкость отбрасывали.

3) Затем центрифугировали в течение 20 мин при 3000 об/мин для более плотной упаковки клеток[39].

2.3 Определение содержания гемоглобина

Принцип метода: при взаимодействии гемоглобина крови с цианистым калием, происходит окисление до метгемоглобина. Дальше это соединение взаимодействует с ацетонциангидрином и образует цианметгемоглобин. Угасание экстинции которого при 540 нм пропорционально концентрации Hb в образце крови. Определение концентрации гемоглобина проводилось с использованием серии реагентов фирмы «АГАТ», г. Москва.

Реактивы:

1. Трансформирующий реагент (натрий углекислый кислый, 1,0 г; калий железосинеродистый, 200 мг и ампула ацетонциангидрина растворяются в 1000 мл дистиллированной воды);
2. Калибратор (конц. Hb 120 г/л).

Ход определения:

Пробы были приготовлены последовательным внесением реагентов согласно табл.1.

Таблица -1 Порядок внесения реагентов

Реагент	Опытный образец,мл	Контрольный образец мл
Трансформирующий реагент	5	5
Гемолизат (в соотношении 1:2, упакованные эритроциты: дист.вода,0 ⁰ C)	0,02	–
Калибровочный раствор гемоглобина	–	0,02

После добавления тщательно пепитировали. Выдержав 10 мин, измеряли экстинцию против трансформирующего раствора. Брали стеклянную кювету с толщиной слоя 1 см. Длина волны при этом 540 нм.

Концентрацию гемоглобина при спектрофотометрическом определении оптической плотности рассчитывают по формуле.

$$Hb(г/л) = D_{540} \cdot 367,7.$$

При фотоколориметрическом определении измеряют экстинцию в диапазоне длин волн 500 - 560 нм. Калибратор обрабатывают так же, как и опытные образцы. Расчет содержания гемоглобина производят по формуле:

$$Hb(г/л) = D_0/D_x \cdot 120, \text{ где}$$

Hb – содержание гемоглобина в опытной пробе, г/л;

D_0 – оптическая плотность опытной пробы;

D_x – оптическая плотность калибровочной пробы;

120 – содержание гемоглобина в калибровочном растворе, г/л..

2.4 Определение содержания малонового диальдегида

Малоновый диальдегид – один из продуктов перекисного окисления липидов, при взаимодействии с 2-тиобарбитуровой кислотой образует хромоген, максимум поглощения которого находится в красной области видимого спектра, длина волны – 532 нм[36].

Реактивы:

- 1) 0,9%-ный раствор NaCl (физ. раствор);
- 2) 30%-ный раствор трихлоруксусной кислоты (ТХУ);
- 3) 0,1М раствор динатриевой соли этилендиаминтетраацетата (ЭДТА);
- 4) 0,05 н раствор NaOH;

5) 1%-ный раствор 2-тиобарбитуровой кислоты (ТБК),приготовленный на 0,05 н растворе NaOH.

Ход определения:

Пробы были приготовлены последовательным внесением реагентов согласно табл.2.

Таблица 2 – Порядок внесения реагентов в пробу

Реагент	Экспериментальный образец, мл	Контрольная проба, мл
Физиологический раствор	0,8	0,8
Дистиллированная вода	-	0,2
Эритроциты	0,2	-
ТХУ	0,5	0,5
Центрифугировали 15 мин при 1700g, отбирали супернатант		
Супернатант	1,0	1,0
ЭДТА	0,075	0,075
ТБК	0,25	0,25
После внесения реагентов образцы тщательно пепитировали и ставили в кипящую водяную баню на 15 мин. После этого пробирки доводили до комнатной температуры.		

Экстинцию испытуемого образца измеряли против контроля на спектрофотометре при длине волны 532 нм. Использовали стеклянные кюветы толщиной 1 см. За молярной экстинкцию образующегося хромогена брали значение,равне $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ см}^{-1}$ и выражали в мкмоль/г Hb.

$C = D_{532} \cdot V_p \cdot c \cdot F \cdot 1000 / (V_{np} \cdot \varepsilon \cdot d \cdot Hb)$, где:

C – содержание МДА, мкмоль/г Hb,

D_{532} – экстинция при длине волны 532 нм;

$V_{p.c.}$ – объем реакционной смеси (1,325 мл);

F – фактор разведения (7,5);

ε – коэффициент молярной экстинкции образовавшегося хромогена ($1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$);

V пр. – объем супернатанта, используемый для определения содержания МДА (1 мл);

d – толщина кюветы (1 см);

1000/Нб – коэффициент пересчета на гемоглобин.

2.5 Определение активности супероксиддисмутазы

Принцип метода: основан на ингибировании реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде в присутствии СОД в результате дисмутации супероксидных радикалов, являющихся продуктом одной из стадий окисления и одновременно участник на его последующих этапах.

Интенсивность аутоокисления адреналина оценивается на основе динамического увеличения поглощения на длине волны 347 нм, вызванного накоплением продукта окисления и до появления адренохрома.

Реактивы:

- 1) 0,1%-ный (5,46 мМ) аптечный раствор адреналина;
- 2) 0,2 М бикарбонатный буфер, рН=11 (2.12 г Na_2CO_3 , 0,168 г NaHCO_3 , 0,074 г ЭДТА растворяли в 200 мл дистиллированной воды: рН доводили до нужного значения добавлением NaOH);
- 3) Этанол-хлороформ смесь (2:1).

Ход определения:

Готовили гемолизат, полученный путем добавления 450 мкл дистиллированной воды, охлажденной до 0°C , к 50 мкл упакованных эритроцитов. Затем во все пробы приливали 250 мкл смеси этанол-хлороформ (соотношение 2: 1). Содержимое перемешивали и ставили в центрифугу на 6000 об / мин в течение 10 минут. Надосадочную жидкость использовали для определения активности СОД. В таблице 3 представлены составы опытных и холостых образцов.

Таблица 3 – Состав инкубационных проб

Реагенты	Холостая проба, мл	Опытная проба, мл
0,2 М бикарбонатный буфер	3 мл	3 мл
Супернатант	-	0,05 мл
Дистиллированная вода	0,05 мл	-
Адреналин	0,15 мл	0,15 мл

После добавления адреналина в образец содержимое быстро перемешалось. Измерения проводились в кювете с толщиной 1,0 см. Каждые 30 с в течение 3 мин записывали значения экстинции. Для расчета активности СОД использовали показатели оптической плотности холостого и экспериментального образцов. Ферментативную активность выражали в ус.ед./мин*гНб.

2.6 Определение активности каталазы

Метод определения активности КТ основан на образовании комплекса пероксида водорода, который не разрушается в процессе каталазной реакции, с молибдатом аммония желтого цвета с максимумом поглощения при $\lambda = 400$ нм.

Реагенты:

1. 0,03% раствор перекиси водорода;
2. 4% раствор молибдата аммония.

Ход определения:

Для начала приготавливали 0,03% перекись водорода. Для этого брали мерную колбу на 50 мл, добавляли в нее 0,50 мл 3% перекиси водорода и доводили до метки дистиллированной водой.

После этого готовили гемолизат. В эпендорфку добавляли 0,01 мл упакованных эритроцитов и 490 мкл дистиллированной воды, 0°C.

Порядок внесения экспериментальных и контрольной пробы приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Состав опытных и контрольной проб

Реагент	Опытный образец, мл	Контрольный образец, мл
0,03% Перекись водорода, H ₂ O ₂	2	2
Дистиллированная вода, 0 ⁰ С	–	0,01
Гемолизат	0,01	–

Получившиеся пробы перемешивали, ставили в темноту на 10 минут. По окончании времени добавляли 1 мл раствора молибдата аммония, тем самым останавливая реакцию. Окраска контроля была желтая и значительно отличалась от опытных образцов.

Экстинцию измеряли на спектрофотометре в стеклянной кювете, толщина слоя которой была 1,0 см, при длине волны 400 нм. Измерение проводили против дистиллированной воды. Активность фермента рассчитывали по формуле:

$$A = (D_k - D_o) \cdot V \cdot f \cdot 1000 / \varepsilon \cdot v \cdot l \cdot t \cdot Hb, \text{ где}$$

D_k – оптическая плотность контроля;

D_o – оптическая плотность опытной пробы;

V – объём всего образца (3,01 мл);

f – фактор разведения эритроцитов (50);

t – время регистрации оптической плотности, равное 10 минут;

l – толщина кюветы (см);

ε – коэффициент миллимолярной экстинкции для H₂O₂ при длине волны 400 нм, равный $22,2 \times 10^3 \text{ ММ} \cdot \text{см}^{-1}$;

Hb – концентрация гемоглобина, г/л.

2.7 Статистическая обработка результатов

По результатам исследований была сформирована база данных, на основе которой производился статистический анализ с помощью пакета прикладных программ MicrosoftOfficeExcel 2010. Обработка данных производилась с использованием методов описательной статистики: среднего значения и среднего отклонения. Достоверность различий между двумя независимыми выборками оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

3 Результаты исследования и их обсуждения

В настоящее время участие АФК показано в этиопатогенезе многих заболеваний и патологических состояний, основанное на нарушении взаимосвязи между производством активных форм кислорода и его ингибированием антиоксидантами, однако причины могут быть разные. В последние годы термин «окислительный стресс» широко используется для описания дисбаланса окислительной и антиоксидантной систем в клетках. Усиление деструктивных процессов в результате развития окислительного стресса может являться патогенетическим фактором заболевания, но не обязательно лежит в основе его развития [16].

Для исследования нарушений в системе «прооксиданты – антиоксиданты» при колоректальном раке нами проанализировано содержание одного из прооксидантов – малонового диальдегида, продукта перекисного окисления липидов. Состояние антиоксидантной защитной системы оценивалось по активности двух ферментов, работающих как синергисты, супероксиддисмутазе и каталазе.

В исследовании приняли участие больные колоректальным раком, диагноз которых устанавливался врачами Красноярского краевого клинического онкологического диспансера им. А. И. Крыжановского. Всего в работе было обследовано 25 человек больных без деления по степени выраженности патологического процесса.

В эритроцитах больных колоректальным раком были определены показатели прооксидантной и антиоксидантной систем до лечения, при поступлении пациента в онкодиспансер, затем у этих же пациентов после проведения хирургического удаления опухоли, через 6-7 дней.

В табл. 5 и 6 приведены результаты исследования содержания малонового диальдегида, а также активности СОД и каталазы в эритроцитах больных колоректальным раком до лечения, после удаления опухоли и контрольной группе, состоящей из 25 условно здоровых людей.

Таблица 5 – Содержание малонового диальдегида и активность супероксиддисмутазы и каталазы у больных колоректальным раком до операции

Исследуемые показатели	Контроль, n =25	До операции
МДА, мкмоль/г Нб, n=24	4,20 ± 0,30	17,51± 9,25*
СОД, усл.ед/мин*г Нб, n=17	1541 ± 69	1967 ± 241
Каталаза, мкмоль/мин*гНб, n=25	293 ± 17	236 ± 61

Примечание: достоверно по отношению к контролю - * $p < 0,05$

Полученные результаты свидетельствуют о том, что как до, так и после операции в эритроцитах пациентов с КРР существенно повышен уровень МДА. (на 317% до лечения и на 368% после лечения) по сравнению с контролем. Результаты являются достоверными ($p < 0,05$).

МДА является высокорекреационным соединением, способным изменять структуру биомакромолекул, таких как липиды, белки, углеводы и нуклеиновые кислоты, тем самым нарушая их биологические функции [15].

Стационарный уровень малонового диальдегида и других продуктов липопероксидации поддерживается за счет функционирования антиоксидантной защитной системы, представленной ферментами и низкомолекулярными антиоксидантами.

Два важнейших фермента антиоксидантной системы эритроцитов – СОД и каталаза, устраняют первые, образующиеся при одно- и двухэлектронном восстановлении O_2 его активные формы, супероксидный анион-радикал и пероксид водорода. Тандем этих ферментов предохраняет от повреждающего действия АФК основной белок эритроцитов, гемоглобин, а

также ферменты гликолиза, пентозофосфатного пути окисления глюкозы, мембраносвязанные ферменты.

Таблица 6 – Содержание малонового диальдегида и активность супероксиддисмутазы и каталазы у больных колоректальным раком после операции

Исследуемые показатели	Контроль, n =25	После операции
МДА, мкмоль/г Нб, n=24	4,20 ± 0,30	19,97 ± 6,82*
СОД, усл.ед/мин*г Нб, n=17	1541 ± 69	1765 ± 183
Каталаза, мкмоль/мин*гНб, n=25	293 ± 17	246 ± 49

Примечание: достоверно по отношению к контролю - * $p < 0,05$

У больных колоректальным раком активность супероксиддисмутазы имеет тенденцию к повышению до и после операции по сравнению с соответствующими показателями в контрольной группе. Так, активность СОД повышена незначительно и недостоверно на 28% до лечения и на 15% после операции по сравнению со здоровыми людьми.

Несмотря на то, что СОД проявляет только тенденцию к повышению активности в эритроцитах больных колоректальным раком, попробуем разобраться в этих результатах. Отсутствие достоверности до и после операции относительно контроля, по-видимому, в первую очередь объясняется не только небольшой выборкой (17 пациентов с КРР), но и тем, что в двух группах обследованных есть больные с различной степенью выраженности патологического процесса, которые существенно отличаются по активности супероксидредуктазы.

Вместе с тем анализируя параллельно уровень малонового диальдегида и активность СОД у больных колоректальным раком до и после операции, прослеживается одинаковая тенденция – на фоне повышенного содержания

МДА, косвенного показателя увеличения продукции АФК, в том числе и супероксидного анион-радикала, отмечается рост активности фермента, для которого $O_2^{\cdot-}$ служит субстратом.

Напротив, в отличие от СОД, активность каталазы имеет тенденцию к снижению: на 19% до лечения и 16% после по сравнению с соответствующим показателем у здоровых людей.

После удаления опухоли пациентам была назначена химиотерапия. В таблице 7 приведены результаты содержания малонового диальдегида и активности антиоксидантных ферментов после химиотерапии. Химиотерапия нужна для того, чтобы убить циркулирующие в кровеносном русле злокачественные клетки, часть которых положит начало метастазам. При распространенном раке иных вариантов спасения, кроме химиотерапии, не существует.

Таблица 7 - Содержание малонового диальдегида и активность супероксиддисмутазы и каталазы у больных колоректальным раком после химиотерапии.

Исследуемые показатели	Контроль, n =25	Операция + химиотерапия
МДА, мкмоль/г Нб, n=24	4,20 ± 0,30	29,41 ± 9,37*
СОД, усл.ед/мин*г Нб, n=17	1541 ± 69	3392 ± 320*
Каталаза, мкмоль/мин*гНб, n=25	293 ± 17	250 ± 53

Примечание: достоверно по отношению к контролю - * p < 0,05

Таким образом, мы можем отметить достоверное увеличение концентрации малонового диальдегида в 6 раз по сравнению с условно

здоровыми людьми. Кроме этого, достоверно увеличивается активность супероксиддисмутазы на 120 % и по сравнению с контрольной группой.

Анализируя полученные результаты и сопоставив их с данными параллельно проведенных исследований о состоянии глутатионового звена антиоксидантной системы [40], можно сделать вывод о том, что у пациентов как до, так и после оперативного вмешательства и химиотерапии в эритроцитах превалируют прооксидантные процессы над антиоксидантными.

Заключение

1. У больных колоректальным раком в эритроцитах существенно и достоверно повышен уровень перекисного окисления липидов, как до лечения, так и после операции и химиотерапии относительно контрольного показателя. Наиболее значимое содержание малонового диальдегида выявлено у пациентов после химиотерапии.

2. В эритроцитах пациентов после операции и курса химиотерапии достоверно увеличилась активность супероксиддисмутазы по сравнению с контролем.

Список использованных источников

1. Keum, N. N. Global burden of colorectal cancer: emerging trends, risk factors and prevention strategies / N. N. Keum [et al.] //Nature reviews Gastroenterology &hepatology. – 2019. – Т. 16. – №. 12. – С. 713-732.
2. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы и антиоксиданты /Ю.А. Владимиров // Вестн. РАМН. – 1998. – № 7. – С. 43-51.
3. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в живых системах / Ю.А. Владимиров // Итоги науки и техники. – 2000. – Т. 29. – С. 151-167.
4. Saikolappan, S. Reactive oxygen species and cancer: a complex interaction/ S. Saikolappan [et al.] //Cancer letters. – 2019. – Т. 452. – P. 132-143.
5. Sarangarajan, R. Antioxidants: friend or foe?/ R. Sarangarajan [et al.] //Asian Pacific journal of tropical medicine. – 2017. – Т. 10. – №. 12. – P. 1111-1116.
6. Зенков, Н.К. Окислительный стресс :Биохимический и патофизиологические аспекты / Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, Е.Б. Меньщикова. М. : МАИК "Наука/Интерпериодика", 2001. – 342 с.
7. Гамалей, И.А. Перекись водорода как сигнальная молекула / И.А. Гамалей, И.В. Клюбин //Цитология. – 1996. – Т.38, №12. – С. 1233-12470.
8. Петренко, Ю. М. Перекисная модификация гемоглобина и нарушение свойств мембран эритроцитов : автореферат дис. на соиск. учен.степ.доктора биологических наук : 03.00.02. - Москва, 2000. - 45 с.
9. Weinberg, F Reactive oxygen species in the tumor microenvironment: an overview / F. Weinberg, N. Ramnath, D. Nagrath //Cancers. – 2019. – Т. 11. – №. 8. – P. 1191.
10. Zou, Z. Induction of reactive oxygen species: an emerging approach for cancer therapy / Zou Z. [et al.] //Apoptosis. – 2017. – Т. 22. – №. 11. – P. 1321-1335.
11. Bayr, H. Reactive oxygen species //Critical care medicine. – 2005. – Т. 33. – №. 12. – P. 498-501.

12. Rašić, I. The relationship between serum level of malondialdehyde and progression of colorectal cancer / I. Rašić [et al.] //Acta Clinica Croatica. – 2018. – Vol. 57, №. 3. – P. 411-416.
13. Gaschler, M. M. Stockwell B. R. Lipid peroxidation in cell death / M. M. Gaschler, B. R. Stockwell // Biochemical and biophysical research communications. – 2017. – Т. 482. – №. 3. – P. 419-425.
14. Барабой, В.А. Механизмы стресса и перекисное окисление липидов / В.А. Барабой // Успехи соврем.биологии. – 1991. – Т. 111, № 6. – С. 923-931.
15. Болдырев, А.А. Биомембранология /А.А. Болдырев. – Петрозаводск: Издательство Кар НЦ РАН, 2006. – 226 с.
16. Бобырев, В.Н. Специфичность систем антиоксидантной защиты органов и тканей – основа дифференцированной фармакотерапии антиоксидантами /В.Н. Бобырев, П.Ф. Почерняева, С.Г. Стародубцев // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2005. Т. 57. №1. С. 78-86.
17. Барабой, В.А. Перекисное окисление и стресс /В.А. Барабой. М.: Наука, 2004. – 148 с.
18. Меньщикова, Е.Б. Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков // Успехи соврем.биологии. – 1993. – Т. 113, №4. – С.442-453.
19. Suleman, M. Antioxidants, its role in preventing free radicals and infectious diseases in human body / M. Suleman[et al.]//Pure and Applied Biology (PAB). – 2019. – Vol. 8, №. 1. – P. 380-388.
20. Ighodaro, O.M. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid / O.M. Ighodaro, O.A Akinloye //Alexandria journal of medicine. – 2018. – Vol. 54, №. 4. – P. 287-293.

21. Abiaka, C. Effect of Prolonged Storage on the Activities of Superoxide Dismutase, Glutathione Reductase, and Glutathione Peroxidase /C. Abiaka, F. Olusi // *Clinical Chemistry*. – 2003. – Vol. 46. – P. 560-576.
22. Irawan, B. Association of superoxide dismutase enzyme with staging and grade of differentiation colorectal cancer: A cross-sectional study /B. Irawan [et al.] // *Annals of Medicine and Surgery*. – 2020. – Vol. 58. – P. 194-199.
23. Signorella, S. Rationally designed mimics of antioxidant manganoenzymes: Role of structural features in the quest for catalysts with catalase and superoxide dismutase activity/ S.Signorella, C. Palopoli, G. Ledesma // *Coordination Chemistry Reviews*. – 2018. – T. 365. – P. 75-102.
24. Petersen, S.V. The dual nature of human extracellular superoxide dismutase: One sequence and two structures / S.V. Petersen, T.D. Oury, Z.M. Valnickova // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* – 2003. – Vol. 24. – P.175–180.
25. Ookawara, T.A. Purification and subunit structure of extracellular superoxide dismutase from mouse lung tissue / T.A. Ookawara, T.R. Kizaki, S.M. Ohishi // *Arch.Biochem. Biophys.* – 1997. – Vol. 34. – P. 299–304.
26. Lookene, A.M. Characterization of heparin binding of human extracellular superoxide dismutase / A.M. Lookene, P.D. Stenlund, L.A.Tibell // *Biochemistry*. – 2000. – Vol. 39. – P. 230–236.
27. Disilvestro, R.A. Species-specific heterogeneity for molecular weight estimates of serum extracellular superoxide dismutase activities / R.A. Disilvestro, F.L. Yang, E.A. David // *Comp. Biochem. Physiol.* – 1992. – Vol.101. – P.531–534.
28. Oury, T.D. Human extracellular superoxide dismutase is a tetramer composed of two disulphide-linked dimers: a simplified, high-yield purification of extracellular superoxide dismutase / T.D. Oury, J.D. Crapo, Z.A. Valnickova, J.J. Enghild // *Biochem.* – 1996. – Vol. 317. – P.51–57.
29. Vlasits, J. Mechanisms of catalase activity of heme peroxidases / J. Vlasits [et al.] // *Arch. Biochem. Biophys.*– 2010. – Vol. 500, № 1. – P. 74-81.

30. Ścibior, D. Katalaza–budowa, właściwości, funkcje / D. Ścibior, H. Czeczot // *Postepy Hig. Med. Dosw. (Online)*. – 2006. – Т. 60. – P. 170-180.
31. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function / W. Dröge // *Physiological reviews*. – 2002. – Vol.1. – P.31–33.
32. Ercal, N. Toxic metals and oxidative stress part I: mechanisms involved in metal-induced oxidative damage / N. Ercal, H. Gurer-Orhan, N. Aykin-Burns // *Curr. Top. Med. Chem.* – 2001. – Vol.1. – P.529–539.
33. Góth, L Catalase enzyme mutations and their association with diseases / L. Góth, P. Rass, A. Páy // *Mol. Diagn.* – 2004.– Vol. 8. – P.141–149.
34. Денисенко, В.Л. Осложнения колоректального рака: проблемы и перспективы / В.Л. Денисенко, Ю.М. Гаин // *Новости хирургии*. – 2011. – № 1 – С. 103-111.
35. Гусеинова, З.К. Частота распространенности и скрининг диагностика колоректального рака / З.К. Гусеинова // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. – 2015. – № 3-2. – С. 190-197
36. Алиев, Ф.Ш. Эпидемиология колоректального рака: мировые и региональные тенденции / Ф.Ш. Алиев // *Медицинская наука и образование Урала*. - ,2016. – №4. – С. 125-128.
37. Огнерубов, Н.А. Колоректальный рак в Тамбовской области: некоторые аспекты эпидемиологии / Н.А. Огнерубов, А.А. Иванников, В.В. Милованов, В.Л. Чанг // *Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки*. – 2015. – № 6. – С. 1679-1684.
38. Яйцкий, Н.А. Опухоли кишечника / Н. А. Яйцкий, В.М. Седов. - 1994. – 36 с.
39. Титова, Н.М. Оценка структурно-функционального состояния клетки/ Н.М. Титова, Т.Н. Замай, Т.Н. Субботина, А.А. Савченко. – Красноярск: ИПК СФУ, 2009. – С.18-19.

40. Прокопчук, Е.Д. Оценка состояния глутатионового звена антиоксидантной системы крови у больных колоректальным раком – Красноярск, 2021. – 40 с.

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего образования
«СИБИРСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ
Заведующий кафедрой

 Е.И. Шишацкая

«25» июня 2021 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Уровень перекисного окисления липидов и активность антиоксидантных
ферментов при колоректальном раке

Научный руководитель  доцент, канд.биол. наук Н.М. Титова

Выпускник  Р.А. Рочева

Красноярск 2021