

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

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

_____ Е. И. Шишацкая

« ____ » _____ 2019 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

Исследование антиоксидантного статуса плазмы крови больных
раком прямой кишки до и после лечения

Научный руководитель _____ доцент, к.б.н.Н.М. Титова

Выпускник _____ К. В. Кучерова

Красноярск 2019

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
1 Обзор литературы	6
1.1 Активные формы кислорода – характеристика и их биологическая роль	6
1.2 Антиоксидантная система человека.....	9
1.3 Церулоплазмин.....	12
1.4 Супероксиддисмутаза.....	16
1.5 Мочевая кислота.....	18
1.6 Железо и белки, участвующие в его метаболизме.....	20
1.7 Альбумин.....	23
2 Материалы и методы	26
2.1 Объект исследования.....	26
2.2 Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови модифицированным методом Ревена.....	26
2.3. Определение активности супероксиддисмутазы.....	27
2.4 Определение содержания мочевой кислоты.....	29
2.5 Определение концентрации железа колориметрическим методом без депротеинизации.....	30
2.6 Определение концентрации альбумина унифицированным колориметрическим методом.....	31
2.7 Статистическая обработка результатов.....	32
3 Результаты исследований	33
3.1 Анализ состояния антиоксидантной системы плазмы крови у здоровых людей.....	33
3.2 Анализ состояния антиоксидантной системы плазмы крови у людей больных раком прямой кишки до лечения.....	33
3.3 Анализ состояния антиоксидантной системы плазмы крови у людей больных раком прямой кишки после лечения.....	36
3.4 Сравнительный анализ состояния антиоксидантной системы у больных раком прямой кишки до и после лечения.....	39
3.5 Уровень железа у больных раком прямой кишки.....	41
Заключение	43

Список использованных источников:.....44

Введение

Рак прямой кишки – опухолевое перерождение клеток эпителия слизистой оболочки любого из отделов прямой кишки, обладающее всеми признаками злокачественности и клеточного атипизма. Это значит, что такая опухоль характеризуется обычными свойствами злокачественных новообразований, а именно: быстрым и инфильтративным ростом с проникновением в окружающие ткани, склонностью к метастазированию, частыми рецидивами после проведенного лечения.

Современными онкологами рак прямой кишки объединен с раком ободочной кишки в одну группу и называется колоректальным раком. Наиболее часто опухоль локализуется в тех отделах, где происходит задержка кишечного содержимого – в прямой кишке, сигмовидной и слепой. Помимо этого возможными причинами данного заболевания могут стать наследственность, гиповитаминозы, малоподвижный образ жизни, курение и алкоголь [1].

Болезнь одинаково часто встречается среди мужчин и женщин в возрастном промежутке от 40 до 75 лет. Распространенность – 16 случаев на 100 тысяч населения в год. Чаще всего заболевают жители больших городов. Ежегодно в мире рак прямой кишки диагностируется у 600 000 пациентов. Растет смертность от рака прямой кишки. Каждые 10 лет она увеличивается на 15% - 20%. Не смотря на частую встречаемость, этот вид онкологической патологии завершается благоприятным исходом значительно чаще других раковых опухолей. Это связано с тем, что анатомическое расположение первичной опухоли при раке прямой кишки доступно диагностике на ранних стадиях развития.

Одним из патогенетических звеньев в развитии онкопатологий, согласно современным данным, является окислительный стресс. Окислительный стресс – это нарушение обменных процессов и энергии в

результате накопления в организме активных форм кислорода (АФК), которые повреждают или запускают механизм повреждения клеток. Избыток АФК приводит к повреждению наиболее важных полимеров – нуклеиновых кислот, белков и липидов [1].

Стационарный уровень АФК поддерживается многокомпонентной антиоксидантной системой, состоящей из ферментов и многочисленных низкомолекулярных соединений, исследование которой является актуальным при изучении различных патологических процессов, в том числе и онкологических заболеваний.

В связи с этим целью данной работы явилась оценка состояния антиоксидантной системы плазмы крови у больных раком прямой кишки до и после лечения.

Исходя из цели, были поставлены следующие задачи:

1. Исследовать содержание компонентов антиоксидантной системы в плазме крови здоровых людей.
2. Определить активность антиоксидантных ферментов плазмы крови больных раком прямой кишки до и после лечения.
3. Оценить уровень компонентов неферментативной антиоксидантной системы плазмы крови больных раком прямой кишки до и после лечения.
4. Определить уровень железа в плазме крови больных раком прямой кишки до и после лечения.

Работа, являющаяся частью комплексных исследований по изучению окислительно-восстановительных процессов и антиоксидантной системы в норме и при различных патологиях, выполнена на базе кафедры медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета.

1 Обзор литературы

1.1 Активные формы кислорода – характеристика и их биологическая роль

Кислород играет ключевую роль в энергетике большинства живых существ. Он служит окислителем питательных веществ в процессе дыхания животных, растений, грибов и бактерий. Без кислорода обходятся лишь сравнительно немногочисленные виды, обитающие в бескислородных (анаэробных) условиях и покрывающие свои энергетические потребности за счет брожения [2].

Однако высокая окислительная способность кислорода, необходимая для его функционирования в дыхательной системе, из добра превращается в зло, если принять во внимание возможность “паразитных” химических реакций окисления кислородом различных веществ живой клетки. Эти самопроизвольные, неферментативные реакции всегда начинаются с одноэлектронного восстановления молекулярного кислорода, давая его анион-радикал, или супероксид [2].

К наиболее значимым активным формам кислорода относят:

- $O_2^{\cdot -}$ - супероксидный анион
- H_2O_2 - пероксид водорода
- $\cdot OH$ - гидроксильный радикал

Одной из самых активных форм кислорода (АФК) считают короткоживущий и чрезвычайно реакционноспособный гидроксильный радикал $\cdot OH$, время жизни которого составляет всего 10^{-9} с [3]. Близкий к нему по активности супероксид-радикал $O_2^{\cdot -}$ имеет время жизни 10^{-6} с. Наиболее долгоживущей формой АФК является H_2O_2 , которая также весьма реакционноспособна.

АФК генерируются во всех частях клетки. Наибольший вклад вносит дыхательная цепь митохондрий, особенно при низкой концентрации АДФ.

В нормальных условиях АФК синтезируется в малых количествах, но в условиях стресса образование АФК может резко увеличиться, что приводит к ингибированию защитных систем организма [3].

АФК – молекулы, которые обладают высокой химической активностью за счёт наличия неспаренного электрона. Под действием АФК происходит перекисное окисление липидов, окислительная модификация ДНК и белков, и малых молекул во всех клетках организма [4].

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) является одним из наиболее распространенных видов свободно-радикальных процессов во многих организмах, в том числе и у человека. Субстратами ПОЛ служат полиненасыщенные жирные кислоты, входящие в состав фосфолипидов клеточных и внутриклеточных мембран, липопротеинов плазмы крови. Первичные продукты ПОЛ – диеновые конъюгаты и вторичный продукт, малоновый диальдегид наиболее часто используются для оценки интенсивности процессов окислительной модификации липидов..

Мутации могут привести к патологии и гибели клеток или их злокачественному перерождению (раки, лейкозы и др.), а мутации в ДНК половых клеток – к наследуемым заболеваниям. Высокие концентрации АФК и липидных гидропероксидов ингибируют синтез ДНК и деление клеток и могут активировать апоптоз (программированную смерть клеток), что полезно для организма, так как ценой гибели части клеток предупреждает прогрессирование злокачественных процессов и гибель всего организма [5].

Аэробные организмы выработали систему ферментативных и неферментативных механизмов защиты против повреждения АФК. В клетках существует равновесие между выработкой свободных радикалов и факторами антиоксидантной защиты, т.е. прооксидантно-антиоксидантное равновесие [6].

Когда выработка АФК превышает возможности клеточных антиоксидантов, возникает окислительный стресс. Окислительный стресс характеризуется дисбалансом между интенсивной продукцией свободных

радикалов и депрессией антиоксидантных систем клетки. Накопление в клетках свободных радикалов может приводить к окислительной модификации молекул, повреждениям клеточных структур и в итоге к клеточной гибели. Следовательно, оксидативный стресс – это сдвиг к преобладанию прооксидантов над антиоксидантами [7].

Биологическая роль активных форм кислорода многообразна. Образование первичных радикалов осуществляется при участии определенных ферментных систем. Эти радикалы выполняют полезные для организма функции. Из первичного радикала – супероксида, а также в результате других реакций в организме могут образоваться весьма активные молекулярные соединения: перекись водорода, гипохлорит и гидроперекиси липидов. Под действием ионов металлов переменной валентности, в первую очередь ионов Fe^{2+} , из этих веществ образуются вторичные свободные радикалы [8].

Недавно была признана роль H_2O_2 как внутриклеточного мессенджера, влияющего на клеточные процессы, включая фосфорилирование белков, транскрипцию и апоптоз. H_2O_2 может проникать через клеточные мембраны, а внутри клеток реагировать с Fe^{2+} или Cu^{2+} по реакции Фентона, образуя активную форму $\cdot OH$. H_2O_2 используется также для окисления галоген-анионов: в нейтрофилах – Cl^- – для образования мощного окислителя гипохлорита $HOCl$, также убивающего бактерии, а в щитовидной железе – I^- , что необходимо для синтеза гормонов иодтиронинов [9].

Пероксид водорода химически не очень активен, но способствует образованию наиболее токсичной формы кислорода – гидроксильного радикала ($\cdot OH$) по следующей реакции:



Активно исследуется, не могут ли АФК сами прямо выполнять функции вторых посредников гормонов. В пользу этого свидетельствуют накопление АФК при воздействии факторов роста клеток, цитокинов,

инсулина, паратирина, витамина Д₃, модификация эффектов этих гормонов под влиянием АФК и их снижение или блокада антиоксидантами [10].

Очевидно, роль АФК в защите организма шире, чем предполагалось ранее: она включает не только фагоцитоз опасных клеток, но и запуск других воспалительных реакций и иммунных процессов [11].

Процессы свободнорадикального окисления играют важную роль в регуляции основных клеточных программ, таких как пролиферация, дифференцировка, апоптоз, что обуславливает важность сохранения баланса между процессами наработки активированных кислородных метаболитов и их утилизации антиоксидантной системой. Интенсивность протекания свободнорадикальных реакций и активность антиоксидантной системы в крови являются интегральными показателями и отражают реакцию организма на развитие патологии и проведенное лечение [12].

1.2 Антиоксидантная система человека

Нормальная жизнедеятельность организма невозможна без развитой многоступенчатой системы регуляции и координации различных его функций, осуществляемых специальными веществами – биорегуляторами. Среди биорегуляторов, способных повышать защитно-приспособительные возможности организма, видное место занимают противooksидлительные вещества, или антиоксиданты (АО). Антиоксиданты контролируют уровень свободнорадикального окисления (СРО) и препятствуют накоплению токсичных продуктов окисления, участвуют в различных видах обмена веществ, способны изменять активность других регулирующих систем, участвуют в построении структурных элементов клетки [13].

Первоначально понятие АО ассоциировалось с химическими соединениями, непосредственно взаимодействующими с токсическими радикалами и нейтрализующими их. В настоящее время к АО относят более

широкий класс соединений, тем или иным способом снижающих интенсивность свободнорадикальных реакций окисления [14].

Систему защиты тканей и клеток от токсических метаболитов кислорода и продуктов ПОЛ можно условно разделить на два вида: *физиологическую* (механизмы, осуществляющие регуляцию доставки и поступления кислорода к клеткам), *биохимическую* (собственно антиоксидантная система (АОС) организма, включающая широкий класс химических соединений, снижающих активность радикальных окислительных процессов) [15].

Физиологический компонент системы антиоксидантной защиты организма обеспечивает равновесие между интенсивностью транспорта кислорода к клеткам и метаболическими процессами по его выгодной и безопасной утилизации [16].

Биохимическую АОС организма условно можно разделить на специфическую и неспецифическую. Специфическая АОС направлена на разрушение АФК и продуктов их дальнейших превращений.

Действие неспецифической АОС связано с предотвращением условий и возможностей утечки электронов и генерации АФК в ходе окислительно-восстановительных реакций (в рамках окислительного фосфорилирования) или в процессе аутоокисления субстратов (микросомального окисления) [17].

Для понимания механизмов действия АО их можно разделить по точкам приложения или выполнения ими антирадикальной функции. Исходя из этого, среди АО возможно выделение первичных АО, например супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО), препятствующих образованию новых радикалов кислорода, а также вторичных АО, захватывающих уже образовавшиеся радикалы, предотвращая накопление их избытка [18].

Система ингибирования избыточного аутоокисления состоит из неферментативного и ферментативного звеньев. Патогенному воздействию АФК на организм противостоят специализированные ферментные системы.

К специфическим АО-энзимам можно относятся СОД, каталаза, ГПО, глутатионредуктаза (ГР) и трансферазы. Эта группа ферментов, локализующихся преимущественно внутриклеточно, обладает способностью разрушать СР, а также участвовать в разложении гидроперекисей нерадикальным путем. Энзимы антирадикальной защиты характеризуются высокой избирательностью действия, направленного против определенных радикалов; специфичностью клеточной и органной локализации; а также использованием в качестве стабилизаторов металлов, к которым относятся медь, цинк, марганец, железо и ряд других [19].

Содержание АО-ферментов в различных тканях организма существенно различается. В нормальных условиях содержание ферментных АО относительно постоянно и мало зависит от пола, отмечается некоторое снижение их уровня с возрастом. В условиях гипоксии и гипероксии, то есть состояний, усиливающих образование АФК, повышается уровень ферментных АО внутри клеток [20].

Изучение характера изменений состояния основных звеньев АОС проводят в различных тканях органов, внутри- и внеклеточных жидкостях (бронхоальвеолярной, мозговой), в слюне, пристеночном слизистом слое верхних отделов пищеварительного тракта. В качестве материала для изучения свободнорадикальных процессов используют также клетки крови.

В плазме крови АО представлены как ферментными, так и неферментными субстанциями. Некоторые ферменты АОС содержатся в плазме в следовых количествах (СОД), другие из-за большого молекулярного веса молекул практически не проникают через клеточные мембраны (каталаза, ГПО, ГР), что является некоторым препятствием для использования их в качестве фармакологических препаратов на практике. Антиоксидантные свойства проявляют и некоторые белки плазмы крови, в частности ЦП, трансферрин и лактоферрин [20].

К числу АО неферментной системы плазмы крови относятся витамины (E, C, D), каротиноиды, уроновые кислоты, билирубин, стероиды, некоторые аминокислоты, пурины, глюкоза и другие субстанции [21].

Поиск химических соединений, обладающих антиоксидантными свойствами, разработка на их основе новых лекарственных препаратов, действующие на все или определенные звенья свободнорадикального процесса остается актуальным и в настоящее время [22].

1.3 Церулоплазмин

Впервые церулоплазмин (ЦП) крови человека и животных был выделен в чистом виде и описан в 1948 г., впоследствии классифицирован как КФ 1.16.3.1 [23].

К настоящему времени помимо ЦП сыворотки крови, обнаружены множественные его молекулярные формы, которые относятся к тканеспецифическим секреторным белкам, внутриклеточным мембраносвязанным белкам и белкам, локализованным на наружной поверхности плазматической мембраны [24].

Структурные свойства церулоплазмينا, физиологическое и патофизиологическое значение, а также биологическая роль изучены достаточно детально. Согласно современным данным, у этой медьсодержащей оксидазы ионы меди представлены тремя типами. Ион меди первого типа имеет пик оптического поглощения при 610 нм и определяет интенсивный голубой цвет ферментов данного класса, поэтому их часто называют «голубыми» белками. С ионами меди первого типа взаимодействуют два азота гистидина, SH группа цистеина и остаток метионина — вместе они формируют координационную сферу ионов меди. Ион меди второго типа имеет типичный ЭПР спектр двухвалентной меди и не вносит вклада в оптические спектры медьсодержащих оксидаз. Два иона

меди третьего типа образуют биядерный медный комплекс с максимумом поглощения 330 нм [24].

Ион меди второго типа и два иона третьего типа образуют «трехъядерный кластер» — лигандами этого трехъядерного комплекса являются 8 остатков гистидина, расположенных в 4х консервативных аминокислотных последовательностях [25].

Известны две изоформы церулоплазмينا человека, каждая из них — это сывороточный гликопротеин, представленный одной полипептидной цепью [24]. В сыворотке крови здоровых взрослых людей обнаруживаются две изоформы ЦП, различающиеся скоростью миграции при электрофорезе в ацетатном буфере (рН 5.5). В сыворотке новорожденных детей определяются также две фракции, имеющие большую электрофоретическую подвижность, чем фракции ЦП взрослого человека.

В центральной нервной системе млекопитающих обнаружена специфическая астроцитарная форма ЦП (гликозилфосфатидилинозиталТ-связанная форма ЦП) в отличие от секретируемой формы ЦП, синтезируемой печенью и обнаруживаемой в крови. Недостаток астроцитарной формы фермента приводит к аккумуляции железа в тканях мозга и развитию нейродегенеративных процессов. Существует представление об участии ЦП в эндокринной регуляции: его содержание в крови увеличивается при беременности, стрессах, введении экзогенных эстрогенов [26].

Одной из важных функций ЦП является транспорт меди. В качестве переносчика меди ЦП обеспечивает поддержание ее уровня в тканях, особенно в печени, способствуя специфическому переносу ионов меди от печени к клеткам других тканей организма. ЦП является основным носителем меди в сыворотке крови, 90–95% меди содержится именно в нем. Медь, составляющая 0.27–0.32% от всей массы молекулы, играет важную роль в структуре ЦП, входя в состав активных центров фермента [27].

Синтез небесно-голубого белка осуществляется главным образом клетками печени — гепатоцитами, в меньшей мере продукцией данного

протеина заняты лимфоциты и макрофаги. До вхождения меди в молекулу белка он существует в несколько иной форме и называется апоцерулоплазмином. После того, как медь с помощью внутриклеточного фермента АТФазы внедрится в молекулу апоцерулоплазмина, последний превратится в полноценный церулоплазмин, несущий важные физиологические функции. Однако и некоторые другие ткани также способны его вырабатывать [28]. Обнаружена экспрессия гена ЦП в лимфоцитах, в мононуклеарных клетках селезенки, в тканях мозга, в бронхах, в клетках эндометрия матки. ЦП был выявлен в клетках легких на всем протяжении воздухоносных путей и в альвеолах, причем, при воспалительном процессе его уровень в клетках бронхиального эпителия, особенно крупных бронхов, резко возрастал [29].

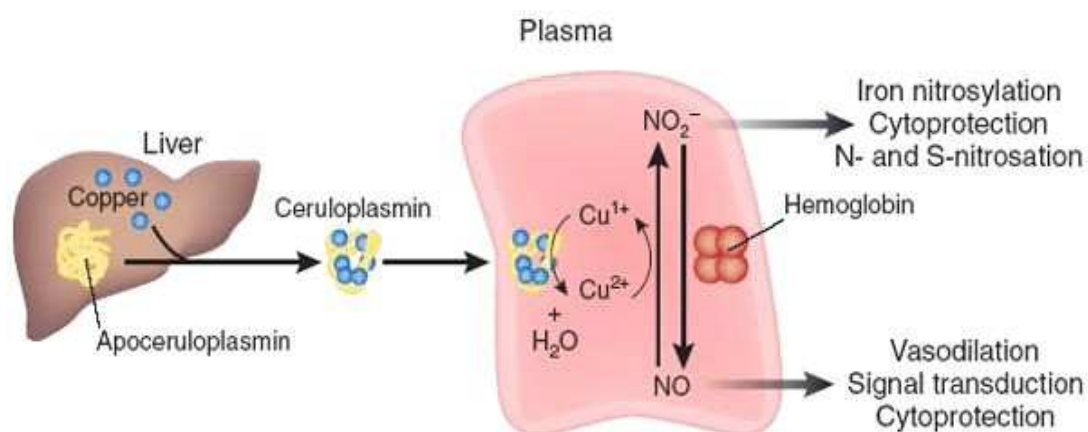


Рисунок 1 – Церулоплазмин – образование и превращение [29]

Медьсодержащий белок наделен довольно широкими возможностями, например [30]:

- Церулоплазмин способствует повышению устойчивости клеточных мембран, предотвращая окисление липидов;
- Не остается в стороне от иммунных реакций, происходящих в организме, в ответ на проникновение чужеродных агентов, несет противовоспалительный эффект;

- В 12-перстной кишке церулоплазмин участвует в регуляции перехода восстановленного ранее до двухвалентной формы железа (Fe^{2+}) обратно в исходное состояние (трехвалентное железо — Fe^{3+}), чем помогает соединению данного металла со своим специфическим транспортным белком – трансферрином, который, в свою очередь, переносит его к органам и тканям;

- Способствует проникновению трехвалентного железа в красный костный мозг, берет на себя роль стимулятора кроветворения, обеспечивает продукцию полноценного красного пигмента крови – гемоглобина;

- Обладая мощным антиоксидантным эффектом, медьсодержащий белок ведет активную борьбу со свободными радикалами, разрушая их и, тем самым, устраняя негативное влияние на организм.

Концентрация церулоплазмينا в крови здорового человека относительно постоянна, но повышается в острой фазе реакций на стресс. При воспалительных заболеваниях уровень ЦП в сыворотке крови возрастает в 2-3 раза. Это служит основанием для включения ЦП в число маркеров острой фазы воспаления. Концентрация ЦП в сыворотке крови в норме составляет около 25—43 мг% (1,7—2,9 мкмоль/л).

Уровень ЦП будет повышен в следующих случаях [31]:

- Хронического воспаления, особенно, ставшего результатом оперативных вмешательств, перенесенных ранее;

- Некрозах тканей;

- Острой инфекции, протекающей со значительным повышением температуры тела и разрушением клеточных элементов;

- Злокачественных опухолевых процессах, локализованных в молочной железе, легких, ЖКТ, шейке матки, метастазов рака;

- Гематологической патологии (лейкемия, лимфогранулематоз);

- Заболеваний печени (гепатиты, циррозы, в том числе, билиарный цирроз печени);

- Механической желтухе, развивающегося при застое желчи (холестазае) первичного желчного цирроза;
- Некоторых заболеваний легких – неспецифической пневмонии (заболевание неинфекционного происхождения с хроническим рецидивирующим течением), туберкулеза;
- Коллагенозов (ревматизм, системная красная волчанка, ревматоидный артрит);
- В12-дефицитной (пернициозной) анемии;
- Дизентерии (острой);
- Меланомы (злокачественная опухоль кожи);
- Отдельных психических болезней, например, шизофрении;
- Тяжелой сердечно-сосудистой патологии такой, как инфаркт миокарда (некроз тканей).

1.4 Супероксиддисмутаза

Супероксиддисмутаза (СОД, КФ 1.15.1.1.) – это группа металлоферментов, катализирующих реакцию дисмутации супероксидных анион-радикалов, поддерживают концентрацию этих радикалов в клетке на низком уровне (10^{-11}), а также уменьшают вероятность образования синглетного кислорода, активность которого на 3-4 порядка выше активности супероксидных анион-радикалов [32, 33].

В зависимости от иона металла в активном центре фермента различают несколько изоферментов СОД: Cu-, Zn-СОД, Mn-СОД и экстраклеточная СОД. Содержание и активность изоферментов в органах и тканях различно.

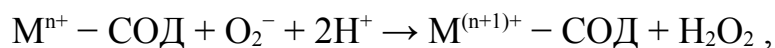
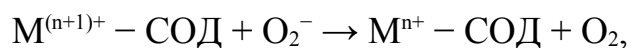
Среди изозимов наибольшей активностью обладает Cu-, Zn-СОД. У человека общее количество Cu, Zn-СОД может достигать до 3900 мг. Медь, цинк содержащая супероксиддисмутаза обнаружена практически во всех аэробных клетках. Присутствует в основном в цитозоле клетки, обнаружена в небольших количествах в лизосомах печени. Высокий уровень Cu-, Zn-СОД

и Mn-SOD обнаружен в печени, в эритроцитах, что позволяет использовать кровь в качестве источника выделения фермента.

Cu,Zn-SOD имеет молекулярный вес около 33200 Да, состоит из двух идентичных субъединиц с молекулярным весом 16300 Да [35]. Каждая субъединица содержит по одному иону меди и цинка, имеет внутри цепи дисульфидный мостик, одну сульфгидрильную группу и ацетилованную концевую аминогруппу. В молекуле фермента ионы цинка и меди, взаимодействуя между собой, находятся в такой близости, что возникающие изменения в окружении одного иона влияют на окружение другого. Ионы цинка прямо не участвуют в реакции дисмутации и выполняют структурную роль, обеспечивая конформацию белка, необходимую для работы активного центра фермента [36]. Одновалентные анионы (хлора, гидроксила) являются конкурентными ингибиторами фермента, связывая ионы меди активного центра. SOD характеризуется необычайной структурной стабильностью и является одним из наиболее термостабильных глобулярных белков. Фермент активен в 8 М мочеvine; он не реагирует с дитионитробензоатом (ДТНБ) в 8 М гуанидингидрохлориде при pH 11,4 (24) в течение 24 часов. При выдерживании в 86%-ном этаноле при 24 в течение трех часов фермент теряет активность только на 10% [40]. Фермент ингибируется цианидом [37].

Инактивация SOD перекисью водорода сопровождается люминесценцией и восстановлением цитохрома с. Однако, при низких концентрациях перекись водорода действует как восстановитель фермента. Восстановленный фермент довольно устойчив к кислороду [38].

Супероксиддисмутазы относятся к группе антиоксидантов – катализаторов прямого действия. Механизм функционирования SOD включает последовательное восстановление и окисление ионов металла переменной валентности (Cu) в активном центре фермента [39]. Высокой активностью Cu,Zn-SOD отличаются эритроциты, что позволяет использовать кровь как источник для выделения и очистки фермента. Стадии реакции дисмутации, катализируемой SOD, следующие:



где М (переходный металл) = [Cu](#) (n=1); [Mn](#) (n=2); [Fe](#) (n=2); [Ni](#) (n=2).

Супероксидные радикалы могут продуцировать лейкоциты в процессе фагоцитоза. Источниками супероксидных радикалов являются цепи переноса электронов (митохондрии), некоторые флавинсодержащие оксидоредуктазы, локализованные в цитозоле, такие как ксантиноксидаза, альдегидоксидаза, дегидрооротатдегидрогеназа и др.

В цитозоле радикалы могут образовываться также в процессах автоокисления некоторых белков и низкомолекулярных метаболитов, таких как катехоламины, гидрохиноны и др. В условиях нормального обмена супероксиддисмутазы поддерживают стационарную концентрацию супероксидных радикалов на определенном уровне, защищая тем самым клеточные структуры от повреждающего действия как самих радикалов [40].

1.5 Мочевая кислота

Мочевая кислота (МК), присутствующая в крови, образуется при катаболизме пуриновых оснований [41].

Пурины попадают в организм вместе с пищей. Они участвуют в процессе синтеза нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), энергетических молекул АТФ, а также коферментов. Образованная в ходе пуринового обмена МК должна раствориться в плазме, чтобы в дальнейшем уйти через почки, однако плазма не может растворить мочевой кислоты более чем 0,42 ммоль/л [41]. С мочой из организма в норме удаляется 2,36 – 5,90 ммоль/сутки (250 – 750 мг/сут).

При своей высокой концентрации мочевая кислота образует соль (урат натрия), которая откладывается в тофусы (своеобразные узелки) в различных видах тканей, обладающих сродством к МК. Чаще всего тофусы можно наблюдать на ушных раковинах, кистях рук, стопах, но излюбленным местом являются поверхности суставов (локоть, голеностоп) и сухожильные

влагалища. В редких случаях они способны сливаться и образовывать язвы, из которых в виде белой сухой массы выходят кристаллы уратов. Иногда ураты обнаруживаются в синовиальных сумках, вызывая воспаление, боль, ограничение подвижности (синовит). Соли мочевой кислоты можно найти в костях с развитием деструктивных изменений костных тканей [42].

Стоит заметить, что пурины – это не единственный источник образования мочевой кислоты. Она может быть результатом распада клеток организма из-за заболевания или старости. Источником для образования мочевой кислоты может стать синтез в любой клетке человеческого тела.

Распад пуринов происходит в печени и кишечнике. Гепатоциты и клетки слизистой оболочки выделяют специальный фермент – ксантиноксидазу, с которым и вступает в реакцию пурины. Конечным результатом этого «превращения» является мочевая кислота [43].

Несмотря на то, что избыток мочевой кислоты, может нанести существенный вред организму, без нее все же обойтись нельзя. Она выполняет защитные функции и обладает полезными свойствами. Например, в процессе белкового обмена, она выступает в роли катализатора. Ее влияние распространяется и на гормоны, отвечающие за мозговую активность — адреналин и норадреналин [43].

Норма мочевой кислоты в крови у мужчин не должна превышать 7,0 мг/дл (70,0 мг/л) или находится в пределах 0,24 – 0,50 ммоль/л. У женщин норма несколько ниже – до 5,7 мг/дл (57 мг/л) или 0,16 – 0,44 ммоль/л соответственно. Мочевая кислота больше нормы может быть из-за стрессов, эмоционального перенапряжения или физической нагрузки накануне сдачи анализа. Искажать результаты могут и лекарственные препараты с мочегонным эффектом, витамин С, кофеин, инсулин, бета-адреноблокаторы и ибупрофен. Если отказаться от подобных медикаментов нельзя, то следует предупредить врача перед сдачей анализа [44].

Мочевая кислота обладает двойным эффектом, представляя собой одновременно и активатор перекисного окисления липидов и, в тоже время,

сильный антиоксидант. Основным ферментом метаболизма пуринов является ксантиноксидаза, в ходе ксантиноксидазной реакции возможна генерация супероксид — аниона — активатора перекисного окисления липидов. Мочевая кислота может быть медиатором свободнорадикальных реакций с пероксидом, а также способна катализировать окисление адреналина. В то же время сама мочевая кислота (МК) близка к енольным антиоксидантам, активным хелаторам металлов и синергистом α -токоферола и, таким образом, является антиоксидантом, в результате снижается риск появления и развития доброкачественных и раковых опухолей, способствует заживлению ран и борется с воспалительными процессами [45].

1.6 Железо и белки, участвующие в его метаболизме

Железо – необходимый человеку микроэлемент, принимающий участие во многих процессах, проходящих в организме.

В плазме крови определяется геминное железо - железо ферритина, внутрисосудистого гемоглобина и трансферрина. Геминное железо входит в состав гемина (производного гема, содержащего только одну порфириновую группу). Ферритин представляет собой самый богатый железом сывороточный белок (в его составе имеется мицелла, содержащая до 4300 атомов окисленного железа), состоящий из белка апоферритина и гидрооксидфосфата железа. В эритроцитах железо входит в состав гема гемоглобина - пигмента эритроцитов [46].

Гемоглобин представляет собой сложный белок, относящийся к группе гемопротеинов; белковый компонент в котором представлен глобином, небелковый – четырьмя одинаковыми железопорфириновыми соединениями, которые называются гемами. Ключевую роль в активности гемоглобина играет ион железа, расположенный в центре молекулы протопорфирина. Соединение с этим ионом посредством двух координационных связей и двух связей, образовавшихся вследствие замещения водорода, превращает

протопорфирин в гем. Структура гема целиком расположена в одной плоскости. Во всех белках, относящихся к классу гемопротеидов, железо включено в порфириновую структуру гема [47].

В процессе переноса кислорода гемоглобином молекула O_2 обратимо связывается с гемом, при этом валентность железа не изменяется. Присоединяя кислород, гемоглобин (Hb) превращается в оксигемоглобин (HbO_2). Поскольку валентность железа при этом связывании не меняется, данную реакцию называют не окислением, а оксигенацией. Обратный процесс называется дезоксигенацией. Гемоглобин, не связанный с кислородом, называют дезоксигемоглобином (феррогемоглобином или просто гемоглобином). В феррогемоглобине железо находится в закисной форме Fe (II), одна из двух связей, перпендикулярных к плоскости порфиринового кольца, направлена к атому азота гистидинового остатка, а вторая связь свободна. В дезоксигемоглобине глобин предохраняет железо гема от окисления [47].

В обмене железа принимает участие ряд белков например апоферритин. Белок связывает железо в эритроцитах и превращается в ферритин, который остается в энтероцитах. Таким способом регулируется поступление железа в капилляры крови из клеток кишечника. Когда потребность организма в железе невелика, скорость синтеза апоферритина повышается. При недостатке железа в организме апоферритин в энтероцитах почти не синтезируется [48].

Так же в метаболизме железа принимает участие не менее значимый белок трансферрин. Это транспортный белок, относится к гликопротеинам, синтезируется в печени. Он имеет два центра связывания железа. Трансферрин транспортирует железо с током крови к местам депонирования и использования. В норме трансферрин насыщен железом приблизительно на 33 % [48].

Важное значение имеет белок ферритин. Это олигомерный белок с молекулярной массой 450 к Да. Он состоит из 24 идентичных протомеров,

образующих полую сферу. Функция ферритина – депонирование железа. Железо депонируется в ферритине в виде гидроксифосфата. Содержание железа в молекуле ферритина непостоянно. Ферритин содержится почти во всех тканях, но в наибольшем количестве в печени, селезенке, костном мозге [49].

Железо является обязательным и незаменимым компонентом ферментных систем организма, обеспечивающих должный уровень системного и клеточного аэробного метаболизма. Железо входит в состав крови и более чем сотни ферментов. Железо защищает органы от вредного воздействия избыточного количества токсичной перекиси водорода, которая продуцируется белыми кровяными клетками – лейкоцитами. Избыток перекиси водорода нейтрализуется специальным защитным ферментом – каталазой. В каталазе содержится железо, в присутствии которого молекулы перекиси водорода расщепляются на кислород и воду [50].

Железо также входит в структуру дыхательных ферментов цитохромов, которые участвуют в процессах накопления энергии, выделяющейся во время заключительных этапов биологического окисления.

Согласно современным исследованиям, наибольшее содержание железа после гемоглобина эритроцитов наблюдается в клетках головного мозга.

Железо в тканях головного мозга участвует в генерации импульсов в нервных синапсах, в процессах миелинизации нервных волокон, оказывает влияние на функции гипоталамуса [51].

Несмотря на малое содержание железа в организме человека (3 - 5 г у взрослых и 340-400 мг у новорожденных), по своей значимости оно является унимикроэлементом. Без железа нормальная жизнедеятельность организма человека не была бы возможна. В организме взрослого здорового человека в среднем содержится около 3-5 г железа (40-50 мг железа на 1 кг массы тела). Около 60 % (2,4 г) всего железа находится в гемоглобине, а примерно 30% железа входит в состав ферритина - депо железа. Депо железа - величина непостоянная, и определяется разницей между поступившим и выделенным

из организма железом. Около 9% железа находится в миоглобине, белке, переносящем кислород в мышцах для создания кислородного запаса в организме. Примерно 0,1% металла связывается с белком трансферрином в кровяной плазме. Приблизительно 1% железа входит в состав дыхательных ферментов, таких как каталазы, пероксидазы и др [52].

Без участия железа были бы невозможны следующие биохимические процессы:

1. транспорт электронов (цитохромы, железосеропротеиды);
2. транспорт и депонирование кислорода (миоглобин, гемоглобин);
3. синтез ДНК;
4. тканевое дыхание;
5. работа окислительно-восстановительных ферментов (оксидаза, гидроксилаза, супероксиддисмутаза).

1.7 Альбумин

Альбумин — это водорастворимый глобулярный белок, входящий в состав плазмы крови, на своей поверхности имеет много ионизированных групп.

Сывороточный альбумин составляет 50% от массы всех содержащихся в сыворотке крови белков. Состоит из одной полипептидной цепи, включающей 585 аминокислотных остатков и образующей 9 петель, фиксированных 17 дисульфидными связями [53]. Предполагается, что цепь уложена в три более или менее независимых кооперативных домена. В молекуле имеется одна свободная меркапто-группа, которая может участвовать в образовании дисульфидов, что лежит в основе пускового механизма денатурации этого белка. Сывороточный альбумин обеспечивает около 80% осмотического давления крови, создаваемого высокомолекулярными компонентами.

Полипептидная цепь синтезируется в гепатоцитах печени в виде предшественника - проальбумина, из которого альбумин образуется путем отщепления N-концевого пептида. Синтез альбумина происходит со скоростью 10-12 грамм в сутки, столько же и разрушается. Сильно подвержен посттрансляционной модификации, в результате которой возникает множество фракций, различающихся изоэлектрической точкой.

Функции альбуминов [54]:

1. Поддержание онкотического давления плазмы крови. Поэтому при уменьшении содержания альбуминов в плазме падает онкотическое давление, и жидкость выходит из кровяного русла в ткани. Развиваются "голодные" отеки. Альбумины обеспечивают около 80% онкотического давления плазмы. Именно альбумины легко теряются с мочой при заболеваниях почек. Поэтому они играют большую роль в падении онкотического давления при таких заболеваниях, что приводит к развитию отеков.

2. Альбумины — это резерв свободных аминокислот в организме, образующихся в результате протеолитического расщепления этих белков.

3. Транспортная функция. Альбумины транспортируют в крови многие вещества, особенно такие, которые плохо растворимы в воде: свободные жирные кислоты, жирорастворимые витамины, стероиды, гормоны (тироксин, трийодтиронин, кортизол), метаболиты (мочевую кислоту, билирубин), некоторые ионы (Ca^{2+} , Mg^{2+}).

Для связывания кальция в молекуле альбумина имеются специальные кальцийсвязывающие центры. В комплексе с альбуминами транспортируются многие лекарственные препараты, например, ацетилсалициловая кислота, пенициллин [55].

Тест на сывороточный альбумин используется главным образом для оценки белково-синтетической функции печени и нутритивного статуса. Уровень альбумина в крови является показателем благополучия организма. Биохимический анализ крови альбумина может показать некоторое снижение

содержания белка в крови беременной женщины, во время лактации и у тех, кто курит [56].

Повышенный альбумин в крови происходит при обезвоживании, потере жидкости организмом. Определение альбумина используется для диагностики заболеваний печени и почек, ревматических, онкологических заболеваний. Поскольку молекулы альбумина принимают участие в связывании воды, при падении его уровня ниже 30 г/л часть воды перемещается из сосудистого русла в более плотные ткани, вызывая отеки [40].

Понижение уровня альбумина (гипоальбуминемия) [57]:

- Наблюдается при недостаточном поступлении белка с продуктами питания (голодание, кахексия),
- Нарушении всасывания продуктов распада белка через слизистую ЖКТ (энтериты, удаление части желудка, онкология);
- пониженном синтезе витамина А;
- хронических заболеваниях печени (гепатиты, цирроз, атрофия, карцинома);
- синдром мальабсорбции (гастроэнтеропатии) и патологии ЖКТ;
- хронической почечной патологии;
- термических ожогах;
- травмах тканей;
- после кровотечений;
- в постоперационном состоянии, а также при сепсисе, инфекционных заболеваниях;
- тиреотоксикозе, ревматических заболеваниях.

2 Материалы и методы

2.1 Объект исследования

Объектом исследования служила плазма крови условно здоровых людей (контроль, 70 человек) и людей больных раком прямой кишки (до и после лечения). Кровь у больных забиралась в день поступления в стационар и на 7 сутки после операции. Средний возраст больных раком составил $61,7 \pm 1,1$ лет.

Каждый пациент дал согласие на участие в исследовании, которое было одобрено Локальным этическим комитетом ФГБУ (НИИ медицинский проблем Севера) СО РАН и КГБУЗ (Красноярский краевой клинический онкологический диспансер имени А.И. Крыжановского).

Кровь забиралась из локтевой вены здоровых людей и пациентов, антикоагулянтом служил гепарин. Гепаринизированную кровь центрифугировали в течение 15 минут при 3000 об/мин. (+4°C). После центрифугирования осторожно отбирали плазму и сохранили при -20°C для дальнейшего исследования.

2.2 Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови модифицированным методом Ревена

Принцип метода основан на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا (ЦП).

Реактивы:

1. 0,4 М ацетатный буфер (рН 5,5), приготовленный путем смешивания растворов 1 и 2 (в соотношении 9:1): 1-й раствор- 54,44 г ацетата натрия помещаем в мерную колбу на 1 л и доводим до метри дистиллированной водой, и 2-й раствор-22,6 мл ледяной уксусной кислоты растворили и довели до метки 1 л дистиллированной водой.

1. 1.3%-ный раствор фтористого натрия.
2. 0,5%-ный раствор солянокислого р-фенилендиамина.

Ход работы: в контрольную и опытные пробы вносили реагенты согласно перечня, приведенного в таблице

Реагенты	Контроль (мл)	Опытная (мл)
Ацетатный буфер	8,0	8,0
Плазма крови	0,1	0,1
Фтористый натрий	2,0	2,0
р-фенилендиамин	1,0	1,0

Содержимое проб перемешивали и инкубировали в течение часа в термостате при температуре 37°C. После инкубации во все пробы, кроме контрольной, вносили по 2 мл фтористого натрия.

Содержимое пробирок перемешать и перенести в холодильник на 30 минут. Затем пробы колориметрировать против контроля (бледно-розовой окраски) в кюветах с толщиной слоя 1,0 см при длине волны 530 нм.

Рассчитать данные по формуле:

$$\text{ЦП(мг\мл)} = D \cdot 875$$

где D- оптическая плотность анализируемого образца.

2.3. Определение активности супероксиддисмутазы

Принцип метода: определение активности СОД основано на ингибировании реакции аутоокисления адреналина в присутствии СОД в щелочной среде вследствие дисмутации супероксидных анион-радикалов, которые являются продуктом одного из этапов.

Реактивы:

- 1) этанол-хлороформная смесь (2:1).
- 2) 0,2 М бикарбонатный буфер, рН 11.
- 3) 5,46 мМ раствор адреналина (0,1% аптечный раствор).

Приготовление бикарбонатного буфера: 2,12 г Na₂CO₃, 0,168 г NaHCO₃, 0,074 г ЭДТА, растворить в дистиллированной воде (довести до отметки 200 мл); рН довели до нужного значения добавлением NaOH (конец).

Ход работы:

В пробирку вносили 50 мкл плазмы (эритроцитов) и 450 мкл дистиллированной воды, охлажденной до 0°C. Добавляли 250 мкл этанол-хлороформной смеси, устраняющей мешающее влияние Hb. Далее перемешивали пробы и оставляли инкубироваться при комнатной температуре 10 мин. Полученную суспензию перемешивали и центрифугировали 10 мин при 6000g. Для определения СОД использовали супернатант.

Готовили контрольную и опытные пробы по схеме, представленной в таблице

Реагент	Контроль	Опыт
Бикарбонатный буфер	3	3
Дистиллированная вода	0,05	-
Супернатант	-	0,05
Раствор адреналина	0,15	0,15
<i>Раствор адреналина добавляли в пробу непосредственно перед измерением оптической плотности</i>		

Изменение оптической плотности регистрировали в течение 3-х минут каждые 30 секунд при длине волны – 347 нм в кювете с толщиной слоя 1,0 см. Для расчета активности использовали показатели величины поглощения контрольной и опытной проб. Активность СОД выражают в усл. ед.* мин/л, либо в усл. ед.* мин/г Hb.

$$\text{Ед. активности} \frac{\text{СОД}}{\text{г}} = \left(\frac{E_x - E_0}{E_x} \right) * \frac{100\% * F * V * 1000}{50 * v * d * Hb}, \text{ где}$$

$$\frac{E_x - E_0}{E_x} * \frac{100\%}{50} - \text{единица активности, } 50\% \text{ ингибирование реакции}$$

окисления адреналина; V – общий объем инкубационной пробы (3,2 мл); F – фактор разведения (15); v – объем супернатанта, используемого для

определения активности СОД (0,05 мл); d – длина оптического пути кюветы (1,0 см). $1000/Hb$ – коэффициент пересчета на г Hb, не используется при расчёте на л плазмы.

2.4 Определение содержания мочевой кислоты

Принцип метода: содержащаяся в пробе мочевая кислота окисляется под действием фермента уриказы с образованием перекиси водорода. В присутствии пероксидазы перекись водорода окисляет хромогены с образованием окрашенного продукта. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации мочевой кислоты в пробе. Определение содержания мочевой кислоты осуществляли набором реагентов фирмы ВИТАЛ-Диагностикум (Санкт-Петербург).

Реактивы:

1. Лиофилизат, растворенный в буферном растворе.
1. Калибратор
2. Плазма крови

Ход работы:

	Калибровочная проба	Холостая проба	Опытная проба
Образец	0,05 мл	-	-
Рабочий реагент	2,0 мл	2,0 мл	2,0 мл
Калибратор	-	0,05 мл	-

Пробы

перемешать и инкубировать 5 мин при 18-25 °С.

Фотометрирование: против холостой пробы.

Длина волны: 520 нм

Рассчитать концентрацию мочевой кислоты в плазме крови по формуле:

$$C = E_{\text{оп}} / E_{\text{к}} \cdot 357 \text{ мкмоль/л (6,0 мг/дл)}$$

где $E_{\text{оп}}$ - оптическая плотность опытной пробы

$E_{\text{к}}$ - оптическая плотность калибровочной пробы

357 моль/л- концентрация мочевой кислоты в калибраторе

2.5 Определение концентрации железа колориметрическим методом без депротеинизации

Принцип метода: в кислой среде белковые комплексы, связывающие железо, диссоциируют, и железо восстанавливается до Fe⁺⁺. Ион двухзарядного железа связывается с хромогеном, образуя окрашенный комплекс, концентрация которого пропорциональна концентрации железа в образце и измеряется фотометрически.

Комплексы хромогена с ионами цинка и меди маскируются, образуя неокрашиваемые комплексы с хелатором, что обеспечивает более точное определение концентрации железа, свободное от интерференций. Определение концентрации железа в сыворотке и плазме крови колориметрическим методом без депротеинизации осуществляли набором реагентов фирмы ВИТАЛ-Диагностикум (Санкт-Петербург).

Реактивы:

1. Реагент 1:

Гуанидин гидрохлорид - 2,5 моль/л

Nitro-PAPS - 3,6 ммоль/л

Детергенты, стабилизаторы

2. Реагент 2:

Хелатор - 40 ммоль/л

Ацетатный буфер - 30 ммоль/л

3. Реагент 3: Калибратор

Железо - 30 мкмоль/л (167 мкг/100 мл)

4. Плазма крови

Ход работы:

	Калибровочная проба	Холостая проба	Опытная проба
Образец	-	-	0,10 мл
Дистиллированная вода	-	0,10 мл	-
Калибратор	0,10 мл	-	-
Рабочий реагент	0,10 мл	0,10 мл	0,10 мл

Пробы тщательно закрыть, интенсивно перемешать и инкубировать 3 мин при 18-25 °С.

Фотометрирование: против воды.

Длина волны: 585 нм

Рассчитать концентрацию мочевой кислоты в плазме крови по формуле:

$$C = A_{оп} / A_{кал} \times 30 \text{ [мкмоль/л]},$$

где: $A_{оп}$ - адсорбция опытной пробы, $A_{кал}$ - адсорбция калибровочной пробы, 30 мкмоль/л (167 мкг/100 мл) – концентрация железа в калибраторе.

2.6 Определение концентрации альбумина унифицированным колориметрическим методом

Принцип метода: альбумин образует окрашенный комплекс с бромкрезоловым зеленым (БКЗ) в слабокислой среде в присутствии детергента. Определение концентрации альбумина в сыворотке крови и

плазме крови унифицированным колориметрическим методом осуществляли набором реагентов фирмы ВИТАЛ-Диагностикум (Санкт-Петербург).

Реактивы:

1. Реагент 1-монореагент
Ацетатный буфер рН 4,2 (50,0 ммоль/л)
БКЗ (0,10 ммоль/л)
2. Реагент 2-калибратор
Альбумин сывороточный (60,0 г/л)
Натрий хлористый (154,0 ммоль/л)
3. Плазма крови

Ход работы:

	Калибровочная проба	Холостая проба	Опытная проба
Образец	-	-	0,05 мл
Дистиллированная вода	-	0,05 мл	-
Калибратор	0,05 мл	-	-
Рабочий реагент	0,1 мл	0,1 мл	0,1 мл

Пробы тщательно закрыли, интенсивно перемешали и инкубировали 10 мин при 18-25 °С.

Фотометрирование: против холостой пробы .

Длина волны: 630 нм

2.7 Статистическая обработка результатов

По результатам исследования была сформирована база данных, которая использовалась для проведения статистического анализа с помощью пакета статистических программ Statistica 13 и Microsoft Office 2007. Обработка данных проводилась с помощью подсчета медианы и интервального разброса (С-25, С-75 процентиля). Достоверность различий оценивалась по непараметрическому критерию Манна-Уитни (при $p < 0,05$).

3 Результаты исследований

Из текста выпускной квалификационной работы изъяты результаты интеллектуальной деятельности, которые имеют потенциальную коммерческую научную ценность в силу неизвестности их третьим лицам.

Список использованных источников:

1. Dong, Chang Evaluation of Oxidative Stress in Colorectal Cancer Patients/ Dong Chang, Fan Wang// Biomedical and environment sciences 21. – 2008. – P.286– 289.
2. Скулачев В. П. Кислород в живой клетке: добро и зло / В. П. Скулачев // Сорос.общееобразоват. журн. – 1996. – №3. – С.4–16
3. Верещагина, К.П. Активность ферментов антиоксидантной защиты и анаэробного гликолиза в условиях температурного градиента у палеарктического *Lymnaea stagnalis* / К.П. Верещагина, Ю.А. Лубяга, А.Н.Гурков Щапова Е.П., Мадьярова Е.В.// Стресс-физиологии и биохимии. –2013–. Т.9, №4. С. 339– 344.
4. Zewen, Liu Role of ROS and Nutritional Antioxidants in Human Diseases/ Zewen Liu , Zhangpin Ren , Jun Zhang// Frontiers in physiology. –2018. – P.210– 215.
5. Рахманов, Р. С. Антиоксидантная система как перспективное направление в оценке состояния и прогнозировании здоровья населения/Р.С. Рахманов, Т.В. Блинова // Гигиена и санитария. – 2014– Т.93, №6 С. 91– 94.
6. Загоскина, Н.В, Активные формы кислорода и антиоксидантная система растений/Загоскина Н.В, Назаренко Л.В.//Естественнонаучные исследования. Биология. – 2016. – Т.22, – №2 С. 9– 23.
7. Шарапов, М. Г. Ферментативная антиоксидантная система эндотелиоцитов/ М. Г. Шарапов, Р. Г. Гончаров, А. Е. Гордеева, В. И. Новоселов, О. А. Антонова, А. К. Тихазе, В. З. Ланкин// Доклады академии наук. –2016.– Т. 471, № 2, с. 241–244.
8. Кулинский В. И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита / В. И. Кулинский // Сорос.общееобразоват. журн. – 1999. – №1. – С. 2–7.

9. Горошинская , И.А./Интенсивность окислительных процессов и состояния антиоксидантной системы больных раком вульвы с различной длительностью ремиссии/ И.А Горошинская, Г.А Неродо, Е.И. Сурикова, П.С., Качесова, Е.В. Шалашная, Е.А Неродо, Л.А., Немашкалова , А.В Леонова// Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2014. – №4. – С.53– 56.
10. Владимиров, Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах / Ю. А. Владимиров // Соровский образовательный журнал. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13-19.
11. Kanti Bhooshan, Pandey Markers of oxidative stress in erythrocytes and plasma during aging in humans// Kanti Bhooshan Pandey, Syed Ibrahim Rizvi// Oxidative Medicine and Cellular Longevity. –2010.
12. Чеснокова, Н.П. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем / Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, М.Н. Бизенкова // Успехи современного естествознания. – 2006. – № 7. – С. 37– 41.
13. Cheng, Shao-Bin. Changes of Oxidative Stress, Glutathione, and Its Dependent Antioxidant Enzyme Activities in Patients with Hepatocellular Carcinoma before and after Tumor Resection / Hsiao-Tien Liu, Sin-Yuan Chen, Ping-Ting Lin, Chia-Yu Lai, Yi-Chia Huang // Journal Biochimica et BiophysicaActa. – Taiwan, 2017. – V.12, I.1. – P. 1213– 1220.
14. Мартусевич, А. К. Оксидативный стресс и его роль в формировании дизадаптации и патологии. / А. К. Мартусевич, К. А. Карузин // Биорадикалы и Антиоксиданты. – 2015. – Т. 2., № 2. – С. 5-14.
15. Шахристова, Е.В. Влияние супероксидного анион-радикала и глутатиона на липолиз в адипоцитах крыс при окислительном стрессе, Индуцированном аллоксаном/ Е.В. Шахристова, В.В. Иванов, Е.А. Степовая, В.В. Новицкий //Вестник науки Сибири. – 2012. – № 4 (5).

16. Лишневская, В.Ю. Роль свободнорадикального окисления и нарушение гемоваскулярного гомеостаза при старении / В.Ю Лишневская // Успехи геронтологии. –2004. – Т. 13. – С. 52–57.
17. Семенова, К.В. Ферросодержащие соединения в организме человека и их свойства/ К.В. Семенова, А.В. Бердников// Наука. –2013.– № 2(17). –С. 13-16.
18. Безручко, Н.В Каталаза биологических срезов организма человека и ее клиничко-биологическое значение в оценке эндотоксикоза/ Н.В. Безручко, Г.К. Рубцов, Н.Б., Ганяева, Г.А. Козлова, Д.Г. Садовникова // Вестник Томского государственного педагогического университета. –2012. – № 7 (122). – С. 94–99.
19. Волыхина, В.Е. Супероксиддисмутазы: структуры и свойства/ В.Е. Волыхина, Е.В Шафрановская // Вестник Витебского государственного медицинского университета. – 2009. – Т.8, №4. – С. 6– 12.
20. Skrzycki, M. Extracellular superoxide dismutase (EC-SOD) structure, properties and functions / M. Skrzycki, H. Czeczot // Postepy Hig. Med. Dosw. (Online). – 2004. – Vol. 58. – P. 301– 311.
21. Доценко, О.И., Активность супероксиддисмутазы и каталазы в эритроцитах и некоторых тканях мышей в условиях низкочастотной вибрации / О.И. Доценко , В.А., Доценко, А.М Мищенко // Физика живого. – 2010.–Т. 18 , №1 С.107-113
22. Кусмумахбедов, М.Е. Зависимость условной диэлектрической проницаемости технического альбумина от плотности альбумина в первичном преобразователе/ М.Е. Кусмумехбетов, С.Ж. Биназаров, Н.А.Кембаева//Механика и технологии. –2015.– № 3(49).– С. 103– 106.
23. Strlin, P. Oxidative stress, NO and smooth muscle cell extracellular superoxide dismutase expression / P. Stralin, H. Jacobsson, S. L. Marklund // Biochim. Biophys Acta. – 2003. – Vol. 1619, N 1. – P. 1– 8

24. Меринова , Н.И. Показатели перекисного окисления липидов и глутатионовой антиоксидантной защиты у больных с обострением хронического панкреатита /Н.И. Меринова//Саратовский научно-медицинский журнал. –2013. –Т. 9, № 2. С. 259–262.
25. Deponte, M. Glutathione catalysis and the reaction mechanisms of glutathione-dependent enzymes / M. Deponte // Journal BiochimicaetBiophysicaActa. – 2013. – V.1830, I. 5. – P. 3217–3266.
26. Shiping, H. Glutathione-S-transferase enhances proliferation-migration and protects against shikonin-induced cell death in breast cancer cells / H. Shiping, L. Tsai-Tsen, C. Yi-Ting, K. Hsiu-Maan, L. Ya-Ling // The Kaohsiung Journal of Medical Sciences, 2011–V. 27– I.11.– P. 479– 480.
27. Глебов, А.Н. Роль кислородсвязывающих свойств крови в развитии окислительного стресса, индуцированного липополисахаридом / А.Н. Глебов, Е.В. Шульга, В.В. Зинчук; под ред. Зинчука В.В. – Гродно, 2011. – 216 с.
28. Бормотова, Е.А./Взаимодействие человеческого альбумина и рекомбинантных дериватов альбумин-связывающего белка стрептококка группы G//Е.А.Бормотова, Т.В.Гупалова//Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук.–2014.–№6-1.–С.43-47.
29. Васильева,И.Н.Перспективы исследования низкомолекулярной днк плазмы крови для диагностики экстремальных и патологических состояний/Васильева И.Н., Беспалов В.Г., Зинкин В.Н.// Системный анализ в медицине (САМ 2015). –2015. – С. 133– 137.
30. Targeting antioxidant enzymes as a radiosensitizing strategy / H. Jiang [et al.] //Cancer Letters. – 2018. – Vol. 438. – P. 154– 164.
31. Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment/ S. Chikara[et al.] // Cancer Letters. – 2018. – Vol. 413. – P. 122-134.

32. Rizvi, A. Physiological serum copper concentrations found in malignancies cause unfolding induced aggregation of human serum albumin in vitro / A. Rizvi[et al.] // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 2017. – Vol. 636. –P. 71– 78.
33. Ribeiro,D. Antioxidant and pro-oxidant activities of carotenoids and their oxidation products / D. Ribeiro[et al.]// Food and Chemical Toxicology.– 2018. – Vol. 120. – P. 681– 699.
34. Алексеенко, Е.А. Метаболические изменения биохимических показателей на местном системном уровнях у пациентов с аллергическими заболеваниями/Е.А. Алексеенко, К.А. Попов, И.М. Быков, Р.И. Сепиашвили// Аллергология и иммунология. –2016. – Т.17, №2. С.93– 97.
35. Хамадьянова, А.У/Роль свободнорадикального окисления в патогенезе воспалительных заболеваний органов малого таза и возможность фармакологической коррекции/ Хамадьянова А.У//Медицинский вестник Башкортостана. – 2016. – Т.11, №6(66) С.35– 39.
36. Титова, Н.М. Оценка структурно-функционального состояния клетки: метод.указания к практическим занятиям / сост.: Н.М. Титова, Т.Н. Замай, Т.Н. Субботина, А.А. Савченко.- Красноярск: ИПК СФУ, –2009– №1– С.10 /–№3 С. 18.
37. Ващенко, В.И. Церулоплазмин– от метаболита до лекарственного средства /В.И., Ващенко, Т.Н Ващенко // Психофармакология и биологическая наркология. –2006. – Т. 6, №3. – С. 1254–1259.
38. Белова, С.В Церулоплазмин- структура, физико-химические и функциональные свойства / С.В. Белова, Е.В Карякина //Успехи современной биологии. –2010. – Т.130. – № 2. –С. 180–189.
39. Jacobs A.T., Marnett L.J. System analysis of protein modification and cellular responses induced by electrophile stress // Acc. Chem. Res. 2010. Vol. 43. P. 673–683.

40. Воробьева, А.А. Церулоплазмин сыворотки крови у больных язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки в период обострения и ремиссии/ А.А Воробьева // Фундаментальные исследования. – 2006. – №9.– С. 57.
41. Белова, С.В. Церуоплазмин–структура, физико-химические и функциональные свойства//С.В. Белова, Е.В. Карякина // Успехи современной биологии. –2010.– Т.130.– №2– С. 180– 189.
42. Kohen R., Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification // Toxicol. Pathol. 2002. Vol. 30. P. 620–650.
43. Быкова, С.В. Активность антиоксиданта церулоплазмин в крови телят//С.В.Быкова, Я.И. Ярован, Е.С. Дементьева, И.А. Новикова, //Наука и инновации в сельском хозяйстве. – 2011.– С. 219– 220.
44. Валиева, Д.М. Клинико-диагностическое значение исследования концентрации мочевой кислоты у населения в поликлинических условиях / Д.М. Валиева, С.С. Жумагулова, А.Н. Афонина //Медицинский журнал Западного Казахстана. – 2010. – № 1 (25). С. 52– 53.
45. Чичков, В.Ю. Критерий определения уровня мочевой кислоты в сыворотке крови. /В.Ю.Чичков //Современные проблемы науки и образования. – 2006.– № 3– С. 48– 49.
46. Vashchenko, G. Multi-copper oxidases and human iron metabolism / G. Vashchenko, T.A. MacGillivray // Nutrients. – 2013. – Vol. 5. – P. 2289–2313.
47. Пятченков, М.О. Мочевая кислота и микрососудистая дисфункция у больных метаболическим синдромом// М.О. Пятченков//Вестник Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова. – 2014. – Т. 6., № 2. С. 60– 67.
48. Терентьев П.В., Ростова Н.С. Практикум по биометрии. Учебное пособие. –Л.: Изд-во ЛГУ, 1977. – 152 с.

49. Кухарчук, В.В Антиоксидантная система атерогенных классов липопротеидов плазмы крови человека // В.В. Кухарчук, Е.Е. Аронская, Э.К. Рууге, И.Ф. Чернядьева, А.А. Шумаев// Российский фонд фундаментальных исследований. –1995.
50. Ковругина, С. В. Окислительные модификации белков и антиоксидантная система плазмы крови у пожилых людей с сосудистой деменцией/ С. В. Ковругина // Медицина и здравоохранение. –2000.– С. 21.
51. Чанчаева, Е.А. Современное представление об антиоксидантной системе организма человека// Е.А.Чанчаева, Р.И. Айзман, А.Д.Герасев //Экология человека.–2013.– №7.– С.50– 58.
52. Дати, Ф. Белки. Лабораторные тесты и клинические применения //Ф. Дати, Э. Метцманн// М:Лабора. –2007. – С.560.
53. Moloney,J.N.ROS signalling in the biology of cancer/ J.N. Moloney[et al.] // Seminars in Cell and Developmental Biology. – 2018. – Vol. 80. – P. 5– 64.
54. Yamazaki,Y. Metalation states versus enzyme activities of Cu, Zn-superoxide dismutase probed by electrospray ionization mass spectrometry / Y. Yamazaki, T. Takao // Anal. Chem. – 2008. – Vol. 80.–№21. – P. 8246– 8252.
55. Domellof, M. Iron supplementation does not affect copper and zinc absorption in breastfed infants / M. Domellof [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2009. – Vol. 89. – №1. – P. 185 – 190.
56. Marklund, S. L. Expression of extracellular superoxide dismutase by human cell lines / S. L. Marklund // Biochem. J. – 1990. – Vol. 266. – № 1. – P. 213– 219.
57. Титов, В.Н. Мочевая кислота– эндогенный захватчик активных форм кислорода и тест биологической реакции воспаления/ В.Н.Титов, В.В.Крылин, Ю.К. Ширяева, В.А. Дмитриев,О.В. Гущина, Е.В.Ощепкова,//Клиническая лабораторная диагностика. – 2010.– №9.– С.9.

58. Поздняков, И.М. Мочевая кислота и железо сыворотки крови при беременности, осложненной артериальной гипертензией // И.М. Поздняков, А.В. Ширинская // Бюллетень сибирского отделения Российской академии медицинских наук. – 2013. – Т.33. – №4. – С. 85–89.

59. Курашвили, Л.В. Мочевая кислота как критерий оценки состояния здоровья детей // Л.В. Курашвили, А.Н. Лавров, Е.А. Кирякина, О.Ф. Фролкина // Теоретические и прикладные аспекты современной науки. – 2015. – №9-3. – С.41-43.

60. Лифшиц, В.М. Биохимические анализы в клинике // В.М. Лифшиц, В.И. Сидельникова // – 2001. – С.234.

61. Рослый И.М. Правила чтения биохимического анализа. Руководство для врача // И.М. Рослый, М.Г. Водолажская – 2010. – С. 189.

62. Дати, Ф. Белки. Лабораторные тесты и клинические применения // Ф. Дати, Э. Метцманн // М: Лабора. – 2007. – С.560.

63. Карпищенко, А.И. / Медицинские лабораторные технологии и диагностика // А.И. Карпищенко // Интермедика. – 1999. – С.656.

64. Тимофеев, Ю.М. Опыт тотальных эвисцераций малого таза при раке прямой кишки // Ю.М. Тимофеев, В.Б. Матвеев // Весник. – 2004. – Т.15. – №3. – С.58-60.


65. Решетов, И.В. Синхронное первично-множественное злокачественное новообразование: бифенотипная синозальная саркома и колоректальный рак // И.В. Решетов, И.И. Быков, А.А. Шевалкин // Новости хирургии. – 2018. – Т.26. – №5. – С. 629–635.

66. Тур, Г.Е. Колоректальный рак с метастазами в яичнике // Г.Е. Тур, А.В. Прохоров, К.А. Пономарева // Колопроктология. – 2018. – №64. – С. 46–46.

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

Институт Фундаментальной Биологии и Биотехнологии
Кафедра Медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой
 Е. И. Шишацкая

« 7 » июля 2019 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 - Биология

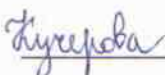
Исследование антиоксидантного статуса плазмы крови больных
раком прямой кишки до и после лечения

Научный руководитель



доцент, к.б.н.Н.М. Титова

Выпускник



К. В. Кучерова

Красноярск 2019