

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой

\_\_\_\_\_ Е. И. Шишацкая

« 14 » июня 2018 г.

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Анализ антиоксидантной активности сыворотки крови  
при патологиях простаты

Научный руководитель \_\_\_\_\_ профессор, к.б.н Н.М. Титова

подпись, дата

Выпускник \_\_\_\_\_ Ефимова О.А

подпись, дата

Красноярск 2018

## **Содержание:**

Введение.....	3
1 Обзор литературы.....	4
1.1 Активные формы кислорода.....	4
1.2 Понятие окислительного стресса и его последствия для клеток.....	6
1.3 Антиоксидантная система организма.....	10
1.3.1 Неферментативная антиоксидантная система.....	14
1.3.2 Ферментативная антиоксидантная система.....	16
1.4 Заболевания предстательной железы.....	20
2 Материалы и методы.....	25
2.1 Объект исследования.....	25
2.2 Определение активности супероксиддисмутазы.....	25
2.3 Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови модифицированным методом Ревина.....	27
2.4 Определение содержания мочевой кислоты.....	29
2.5 Статистическая обработка результатов.....	30
3 Результаты исследования и их обсуждения.....	31
3.1 Антиоксидантная активность сыворотки крови у больных аденомой простаты.....	31
3.2 Антиоксидантная активность сыворотки крови у больных раком простаты.....	32
<b>Заключение.....</b>	<b>34</b>
<b>Список использованных источников.....</b>	<b>35</b>

## Введение

Оксидативным стрессом называют процесс, при котором происходит повреждение клетки в результате реакций окисления. У человека оксидативный стресс является причиной или важной составляющей большого количества серьезных заболеваний, а также старения. В некоторых случаях, однако, оксидативный стресс используется организмом как защитный механизм.

Оксидативный стресс вызывается избыточным образованием активных форм кислорода, либо неправильным функционированием защитной антиоксидантной системы организма в целом. Наиболее значимыми критериями оксидативного стресса являются продукты перекисного окисления липидов, нуклеиновых кислот и модифицированных белков.

Для характеристики антиоксидантной системы при оксидативном стрессе наиболее часто определяются активность низкомолекулярных биоантиоксидантов и антиоксидантных ферментов.

В связи с этим целью данной работы явилось изучение маркеров окислительного стресса в норме при патологиях.

Цель исследования – изучение антиоксидантной активности сыворотки крови у больных аденомой и раком предстательной железы.

В задачи работы входило:

1) Определить активность супероксиддисмутазы, содержание церулоплазмينا и мочевой кислоты в сыворотке крови больных аденомой предстательной железы.

2) Определить активность супероксиддисмутазы, содержание церулоплазмينا и мочевой кислоты в сыворотке крови больных раком предстательной железы.

Работа выполнена на кафедре медицинской биологии Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета и является частью комплексного исследования по изучению

процессов свободно-радикального окисления белков в норме и при различных патологиях.

## 1 Обзор литературы

### 1.1 Активные формы кислорода

Активные формы кислорода (АФК) - это, с физико-химической точки зрения, свободные радикалы, которые имеют на внешней электронной оболочке неспаренный электрон. АФК составляют отдельную систему в организме, участвующую как во многих патологических процессах, так и в ряде физиологических функций. Донорами электронов являются металлы с переменной валентностью, которые входят в состав многих ферментов ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{2+}$  и другие). Образуются АФК в процессе неполного (моновалентного) восстановления кислорода.

Важнейшими АФК считаются: синглетный кислород  $^1\text{O}_2$ , супероксидный радикал  $\text{O}_2^{\cdot-}$ , гидроксильный  $\cdot\text{OH}$  и пероксидный  $\text{HO}\cdot_2$  радикалы, пероксидный ион  $\text{HO}_2^-$ , гипохлорит  $\text{HOCl}$ , перекись водорода  $\text{H}_2\text{O}_2$ . При снижении эффективности антиоксидантных систем организма АФК могут значительно повреждать клетки и вызывать различные

Большинство патологических состояний сопровождаются повышением уровня АФК (стресс, гипоксия, воспаление, высокие и низкие температуры, физическая нагрузка). В настоящий момент внимание ученых - исследователей сосредоточено на повреждающем действии избыточного уровня АФК, роли окислительного стресса в развитии различных патологий и применении антиоксидантов с целью коррекции высокого уровня свободнорадикальных процессов. Но значение АФК на этом не заканчивается. Можно выделить три основные функции свободнорадикального окисления в организме: во-первых, образование АФК и свободнорадикальное окисление как естественный физиологический процесс; во вторых, АФК как повреждающий фактор при чрезмерной

интенсификации свободнорадикального окисления; в-третьих, АФК как сигнальная система, участвующая в регуляции иммунных процессов, экспрессии генов, работе кровеносной, эндокринной и других физиологических систем [2].

В течение последних лет были подтверждены доказательства того, что АФК играют важную роль в сигнализации в клетке. Опосредованные образованием АФК митогенетические сигналы активируют транскрипционные факторы, включая NF-κB, ВcL-2 и т. д. NF-κB регулирует индуцибельную экспрессию ряда генов, участвующих в выживании и удалении клеток [3]. Было выяснено, что АФК действует на белок, чувствительный к окислению. В качестве такого АФК-датчика заявлено несколько белков: тиоредоксин, цитозолил тиоредоксинредуктаза, NADDPH-редуктаза, NADDPN и NADN-оксидазы [4]. В любом случае основным инициатором этой сигнальной цепочки является переход от восстановленных к окисленным белковым сульфгидрильным группам, окисление которых происходит за счет генерации АФК снаружи или внутри клетки. После этого сигнал передается через регуляторные каскады, работающие путем активации специфических рецепторов, которые индуцируют митоген-активированные протеинкиназы - MAPK, SARK [5,6].

Одними их важнейших активных форм кислорода являются супероксид ( $O_2^{\cdot-}$ ), и гидроперекисный радикал ( $HO_2^{\cdot}$ ). Они оказывают токсическое и мутагенное действие на все виды клеток вследствие повреждения мембранных компонентов, ДНК. [7].

Основными источниками АФК в клетках являются:

1. Митохондриальная и микросомальная цепь переноса электронов. Происходит «утечка» электронов с восстановленных элементов этих цепей на молекулярный кислород [8].
2. Пероксисомы, в которых локализован ряд ферментов, связанных с метаболизмом перекиси водорода.

3. Гладкий эндоплазматический ретикулум. В нем локализован ряд цитохром-зависимых оксигеназ, продуцирующих супероксидный радикал [9].

4. Плазмалемма макрофагов и эндотелиоцитов.

5. Окисление гемоглобина и миоглобина, а также склонных к аутоокислению биомолекул [10].

Одним из основных механизмов, который ведет к повреждению или гибели клеток заключается в образовании свободных радикалов и реактивных метаболитов. [11].  $O_2$  образуется в реакциях фотоокисления в присутствии фотосенсибилизаторов: флавины, гематопорфирин и др., а также при дисмутации супероксидных радикалов [12].

$O_2$  агрессивен в отношении биосубстратов. В процессе присоединения электрона к молекуле  $O_2$  образуется супероксидный анион радикал  $O_2^-$  и гидроперекисный радикал; оба они могут быть причиной порождения ряда других АФК. Под действием супероксидантмутазы (СОД) в биологических тканях  $O_2^-$  – анион радикалов, ведёт к образованию перекиси водорода  $H_2O_2$ . В присутствии ионов переходных металлов ( $Fe^{2+}$ )  $H_2O_2$  может давать высокоактивный гидроксильный радикал ( $OH^\cdot$ ), обладающий наибольшей цитотоксичностью среди АФК [13].

Поддержание АФК на определённом уровне важно для регуляции нормальных физиологических процессов в организме, уровня периферического сосудистого тонуса, уровня неспецифической и специфической иммунной защиты, уровня самообновления мембран клетки.

Нарушения системы защиты от АФК приводят к нарушению течения воспалительных процессов, снижает общий специфический иммунитет и др.

## **1.2 Понятие окислительного стресса и его последствия для клеток**

Окислительный стресс - это процесс, при котором происходят повреждения клеток вследствие окисления. Все формы жизни сохраняют восстановительную среду в своих клетках. Клеточный «окислительно-

восстановительный статус» поддерживается специализированными ферментами в результате постоянного притока энергии. При нарушении этого статуса происходит повышение уровня токсичных реактивных видов кислорода, таких как пероксиды и свободные радикалы. В результате действия реакционноспособных видов кислорода происходит окисление таких важных клеточных компонентов, как липиды, ДНК и белки.

У людей окислительный стресс является причиной или важным компонентом многих серьезных заболеваний, таких как атеросклероз, гипертония, диабет и другие. Но в некоторых случаях окислительный стресс используется организмом в качестве защитного механизма [14].

### **Перекисное окисление липидов**

Обычно происходит окисление полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Их окисление развивается по цепному, свободнорадикальному механизму. Эти реакции происходят во всех клетках, но главным образом в липидных структурах клеточных мембран и липопротеинов крови. [15].

Этапы перекисного окисления липидов:

#### **1. Инициирование**

Стадия инициирования окисления начинается с удаления атома водорода из СН<sub>2</sub>-группы остатка жирной кислоты. Начало окисления липидов может быть спонтанным или индуцированным. Наиболее вероятным участником реакции инициации является гидроксил радикал, взаимодействующий с липидами с высокой скоростью (константа скорости  $K = 10^{-9}$ ).

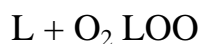
Реакцию инициации можно записать следующим образом:



В результате этой реакции образуется липидный радикал L.

#### **2. Продолжение цепочки**

Продолжение цепи окисления происходит в присутствии кислорода, который всегда находится в липидном бислое. В этом случае L объединяется с O<sub>2</sub> с образованием перекисного липидного радикала (LOO)



Самыми медленными и определяющими скорость всего процесса являются реакции взаимодействия пероксидных радикалов с липидами, приводящие к образованию гидропероксидов липидов. Скорость ПОЛ повышается с увеличением числа двойных связей, то есть с ростом ненасыщенных остатков жирных кислот фосфолипидов.

3. Ветвление цепных реакций может происходить при физиологических температурах и при наличии металлов переменной валентности. Участие ионов восстановленного железа и других металлов переменной валентности в разветвлении цепей ПОЛ основано на катализе этими ионами гомолитического расщепления кислородно-водородных и кислородно-кислородных связей в молекулах гидропероксида с образованием радикалов LOO или LO.

4. Распад цепи окисления происходит в результате рекомбинации радикалов с образованием неактивных продуктов. Обрыв цепи может происходить при взаимодействии радикала, ведущего цепь:

- с другими радикалами. Например, реакция между двумя пероксидными радикалами приводит к образованию неустойчивого тетраоксидного соединения.

- с ионами металлов с переменной валентностью

- с антиоксидантами разной природы.

### **Окислительная деструкция белков**

Процессы свободнорадикального окисления (СРО) участвуют в образовании клетки, связь в механизмах развития многих патологических состояний. Одним из вариантов для СРО является пероксидация (модификация) белков. Нарушение физиологической антиоксидантной



защиты организма приводит к чрезмерному увеличению производства активных форм кислорода, которые инициируют процессы СРО в тканях [16]. Но он не может действовать как катализатор окислительного повреждения, поэтому повреждение влияет на более чем одну молекулу. Считается, что окислительная модификация белков играет ключевую роль в молекулярных механизмах окислительного стресса и может вызвать окислительное разрушение других молекул (липидов, ДНК).

В отличие от перекисного окисления липидов, свободнорадикальное окисление белков не так долго и разветвлено.

Первой стадией окислительной модификации белков является вовлечение НОХ в отрыв водорода от  $\alpha$ -углеродного атома полипептидной цепи. (реакция с). Источником гидроксильного радикала НО $\cdot$  является излучение или катализируемое металлом расщепление.

Реакция алкильного радикала доступна с О<sub>2</sub>, в результате чего образуется алкилпероксисоединение (реакция d), которое может быть получено алкилпероксидом (реакция e) с последующим алкоксирадикалом (реакция h). Последнее, в свою очередь, превращается в гидроксильное производное белка (реакция j) [17,18].

В отсутствие кислорода окисление белка заканчивается на стадии образования углеродного центра, который может взаимодействовать с другими радикальными центрами с образованием белковых белковых связей R1CCR2.

Агрегация белковых молекул способствует образованию мостиков S-S между остатками цистеина 2,2'-бифенильных сшивок остатков тирозиновых белков. Между радикальными центрами аминокислотных остатков могут образовываться ковалентные связи [19].

### **Окислительное повреждение нуклеиновых кислот**

Так как ДНК выступает как носитель наследственной информации и исходной матрицы для синтеза белков, многие окислительные повреждения ДНК представляют значительную опасность для жизни. Взаимодействие

свободных радикалов с нуклеиновыми кислотами может привести к возникновению различных мутаций. Тем не менее, ядерная ДНК даже в нормальных условиях постоянно подвергается действию АФК.

Наиболее вероятным инициатором окислительного повреждения нуклеотидных остатков является гидроксильный радикал. Супероксиданионный радикал, пероксинитрит и  $\text{HOCl}$  могут вызывать химическую модификацию нуклеотидов. Самым важным значением для окислительного повреждения ДНК являются металлы переменной валентности, прежде всего железа и меди.

На данный момент известно около 20 типов повреждений ДНК. Результатом взаимодействия АФК с молекулой ДНК может быть разложение пятичленного кольца дезоксирибозы, появление новых ковалентных связей (сшивок), структурная модификация азотистых оснований, а также расщепление сахара -фосфатного скелета, что приводит к фрагментации ДНК. Особого внимания заслуживает вопрос о окислительном повреждении митохондриальной ДНК. Митохондриальная ДНК подвергается повышенной опасности, поскольку митохондрии являются одним из основных источников АФК в клетке [20].

### **1.3 Антиоксидантная система организма**

Антиоксидантная система состоит из низкомолекулярных антиоксидантов и антиоксидантных ферментов. Содержание антиоксидантов в организме во много раз превышает содержание активных форм кислорода.

Антиоксидантная система организма включает широкий класс соединений, снижающих активность радикальных окислительных процессов. Её физиологический компонент обеспечивает равновесие между транспортом кислорода к клеткам и процессами по его безопасной утилизации.

АОС организма можно условно 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.

Для обеспечения максимальной защиты от окислительного стресса клетки имеют хорошо развитую антиоксидантную систему, которая содержит разные низко- и высокомолекулярные соединения, способные “перехватывать” свободные радикалы или нейтрализовать источник их возникновения.

Антиоксиданты могут быть первичные, которые препятствуют образованию новых радикалов кислорода и вторичные, захватывающие уже образованные радикалы, предотвращая их накопление.

АО можно разделить на ферментативные и неферментативные. Ферментативная группа локализована преимущественно внутриклеточно, обладает способностью разрушать свободные радикалы (СР), а также участвовать в разложении гидроперексидов нерадикальным путем. Энзимы антирадикальной защиты характеризуются высокой избирательностью действия, направленного против определенных радикалов; специфичностью клеточной и органной локализации [21].

Ферментативные АО всегда выполняют свою функцию внутри клеток, так как большая молекулярная масса молекул энзимов препятствует их выходу из клетки, также введенные в организм в виде лекарственных препаратов, экзогенные ферменты не могут проникать внутрь клетки.

Среди неферментных АО можно выделить соединения, имеющие в своей структуре ароматическое кольцо, связанное с одной или несколькими гидроксильными группами. В качестве компонентов неферментативной АОС могут выступать низкомолекулярные вещества, имеющие высокую константу скорости взаимодействия с АФК. Классификация АО приведена на рис.1.



Рисунок 1- Классификация антиоксидантов [22].

К высокомолекулярным антиоксидантам относят мембраносвязанные и цитозольные ферменты (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионзависимые пероксидазы и трансферазы).

Основная направленность действия низкомолекулярных АО связана с защитой белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, а также биомембран от окислительного разрушения при свободнорадикальной процессах. Важное значение низкомолекулярные АО приобретают в условиях окислительного стресса, когда ферментативная АОС оказывается менее эффективной в сравнении с их протекторным действием.

АО разделяют на жирорастворимые (токоферолы, каротиноиды, убихинон) и водорастворимые (аскорбиновая кислота, глутатион, тиоредоксин, билирубин, ураты). Следует отметить, что антиоксиданты бывают внутри и внеклеточные. Постоянное образование прооксидантов в организме уравновешено их дезактивацией антиоксидантной системой. В результате происходит непрерывная регенерация антиоксидантов, необходимая для постоянного поддержания гомеостаза.

При действии разных эндогенных и экзогенных факторов, которые являются причиной окислительного стресса, баланс между антиоксидантной системой и активными формами кислорода в клетках может нарушаться либо в результате снижения уровня антиоксидантов, либо вследствие гиперпродукции активных форм кислорода. Такое состояние нарушенного окислительно-восстановительного статуса клеток, когда активные формы кислорода не могут быть нейтрализованы антиоксидантной системой, называется окислительным стрессом.

Продукция активных форм кислорода в клетках может увеличиваться в результате действия на них физиологических (гормонов, цитокинов, др.) и нефизиологических стимулов (ионизирующего излучения, ксенобиотиков и т.д.) [22].

Для оценки АОА используют различные методы исследования, которые условно можно подразделить на две основные группы.

1. В первом случае определяют уровень продуктов перекисного окисления в исследуемых образцах, например ПОЛ.

2. Во втором случае оценивают путем введения в изучаемые образцы сильных оксидантов, источников свободных радикалов, после чего определяют их концентрацию в анализируемом растворе спектрофотометрическим методом.

Важную роль в реализации АОА *in vivo* принадлежит печени; в гепатоцитах и клетках рыхлой соединительной ткани (макрофагах Купфера) происходят процессы метаболизма, при которых образуются и поступают в кровь эндогенные инактиваторы АФК, включая мочевую кислоту, билирубин, биливердин и альбумин.

### **1.3.1 Неферментативная антиоксидантная система**

В качестве компонентов неферментативной АОС могут выступать низкомолекулярные вещества, имеющие высокую константу скорости взаимодействия с АФК. Неферментативная АОС включает различные по химическому строению и свойствам соединения: водорастворимые - глутатион, аскорбат, цистеин, эрготионеин, и гидрофобные - -токоферол, витамин А, каротиноиды, убихиноны, витамины группы К, которые снижают скорость образования свободных радикалов и уменьшают концентрацию продуктов реакций, протекающих с участием радикалов [23]. Основная направленность действия низкомолекулярных АО связана с защитой белков, нуклеиновых кислот, полисахаридов, а также биомембран от окислительного разрушения при свободнорадикальной процессах. Важное значение низкомолекулярные АО приобретают в условиях окислительного стресса, когда ферментативная АОС оказывается менее эффективной в сравнении с их протекторным действием [24].

#### **Восстановленный глутатион**

Трипептид, образованный остатками трёх аминокислот - глутаминовой кислоты, цистеина и глицина. Является ключевым элементом глутатионовой антиоксидантной системы организма, определяет редокс-статус внутриклеточной среды. Отношение восстановленный/ окисленный глутатион внутри клетки является одним из важнейших параметров, который показывает уровень внутриклеточной токсичности. Глутатион не является незаменимым веществом и вырабатывается в каждой клетке организма.

Глутатион - очень простая молекула. Секрет его мощи заключается в наличии серосодержащих групп (SH). Сера является очень клейким веществом, и к ее молекулам прилипает весь "мусор", содержащийся в нашем теле, в том числе свободные радикалы, токсины и тяжелые металлы.

Глутатион является одним из самых мощных антиоксидантов, основным "сборщиком" свободных радикалов в клетках. Он является ключевым звеном трех антиоксидантных систем организма. В антиоксидантную систему глутатиона входят три глутатионзависимых фермента: глутатионпероксидаза (ГПО), глутатионредуктаза (ГР) и глутатионтрансфераза (ГТ).

Главная антиоксидантная роль глутатиона заключается в защите иммунных клеток, в первую очередь лимфоцитов [25].

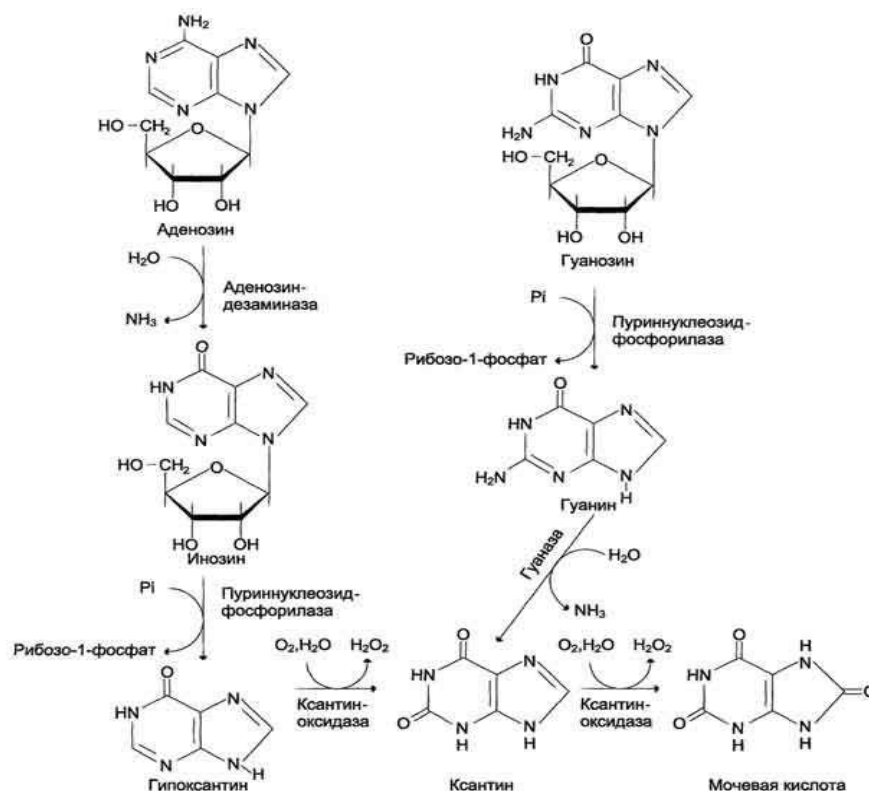
**Аскорбиновая и мочевая кислоты** – два важных антиоксиданта, содержащиеся в организме в высоких концентрациях.

Мочевая кислота является конечным продуктом катаболизма пуринов и образуется в высоких концентрациях из-за отсутствия фермента уриказы, которая у прочих млекопитающих окисляет мочевую кислоту до алантоина (более растворимого соединения).

Мочевая кислота может действовать как антиоксидант за счет связывания переходных металлов, таких как железо и, несомненно, является лучшим антиоксидантом и гораздо худшим прооксидантом, аскорбиновая. Замечена связь между антиоксидантными свойствами мочевой кислоты и ее физиологическими функциями. С другой стороны, высокий уровень мочевой кислоты в плазме ассоциируется с высоким риском коронарной болезни сердца, и ишемического инсульта.

Биосинтез мочевой кислоты.

Пурины образуются в процессе метаболизма пищевых и эндогенных нуклеиновых кислот и, в конце концов, деградировать под действием фермента ксантиноксидазы до мочевой кислоты (рис.2).



$$vT=SDt|vSk=U$$

Рисунок 2 – Метаболический путь образования мочевой кислоты[26].

Она является слабо кислотой ( $\text{pK}_{a1}=5.4$  и  $\text{pK}_{a2}= 9,8$ ) и при физиологических значениях  $\text{pH}$  существует в качестве аниона – дигидроурата натрия, распределенного во внеклеточной жидкости. Мочевая кислота растворима в воде. У людей нет ферментов, способных к дальнейшему окислению мочевой кислоты, и она удаляется из плазмы за счет клубочковой фильтрации.

Концентрация мочевой кислоты определяется сочетанием скорости метаболизма пуринов (как эндогенных, так и экзогенных) и эффективностью почечного очищения [26].

### 1.3.2 Ферментативная антиоксидантная система

#### Супероксиддисмутаза (СОД)

Супероксиддисмутаза - один из основных ферментов антиоксидантной системы, относится к группе антиоксидантных ферментов. Вместе с каталазой и другими антиоксидантными ферментами она защищает



организм от постоянно образующихся высокотоксичных кислородных радикалов.

Супероксиддисмутаза, содержится во всех клетках организма, потребляющих кислород. Она нейтрализует активные формы кислорода путем превращения их в перекись водорода.

Супероксиддисмутаза имеет несколько изоферментных форм, которые отличаются друг от друга строением активного центра. Медь – цинковая форма чувствительна к цианиду. Она содержится в цитозоле и межмембранном пространстве митохондрий клеток эукариот, марганецсодержащая форма локализована в митохондриях клеток эукариот, а так же бактерий, экстрацеллюлярная высокомолекулярная форма COD (Э – COD) .

Регулирующее влияние на активность COD оказывают глутатион, цистеин, другие SH – содержащие соединения, а также опосредованно ферменты глутатионового обмена [27].

### **Церулоплазмин**

Медьсодержащий белок плазмы, играющий важную роль в метаболизме меди и железа и в механизмах прооксидантных / антиоксидантных реакций. Молекула ЦП представляет собой Р-глобулин, составную часть альфа-2-глобулиновой фракции плазмы крови человека. Этот белок насчитывает 1046 аминокислотных остатков [28], содержит 6 доменов и вместе с 6 ионами меди образует тригональную структуру [29].

Известны две изоформы церулоплазмينا человека, каждая из них — это сывороточный гликопротеин, представленный одной полипептидной цепью [30]. Углеводный компонент ЦП (2—8 % от массы молекулы) включает 9 олигосахаридных цепей, содержащих глюкозамин (15,7—19,2 %), маннозу (14,2 %), галактозу (12,3 %), фуктозу (1,6 %), сиаловые кислоты (8,6 %) . Медь составляет 0,27—0,32 % от всей массы белка . Молекулярная масса ЦП у разных видов различна и колеблется в пределах 130—138 кД [31].

## **Биологические функции церулоплазмينا**

Основная физиологическая роль церулоплазмينا заключается в том, что он участвует в окислительно-восстановительных реакциях. Церулоплазмин действует как феррооксидаза и окисляет  $Fe^{2+}$  в  $Fe^{3+}$ . Благодаря этому происходит включение железа в трансферрин без образования токсических продуктов железа. Церулоплазмин выполняет такую важную функцию, как поддержание нормального транспорта и метаболизма железа. При дефиците железа происходит активация транскрипции гена церулоплазмينا гипоксия-индуцибельным фактором-1 (HIF-1), происходит активация гена эритропоэтина, трансферрина и его рецептора.

В зависимости от наличия других факторов церулоплазмин может действовать как прооксидант или как антиоксидант. В присутствии супероксида (например, в воспаленном сосудистом эндотелии), он выступает катализатором окисления липопротеинов низкой плотности. Исходя из результатов эпидемиологических исследований, церулоплазмин рассматривается как независимый фактор риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Печень является основным источником синтеза ЦП в организме. Но и некоторые другие ткани также способны его вырабатывать. 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 [32], причем, при воспалительном процессе его уровень в клетках бронхиального эпителия, особенно крупных бронхов, резко возрастал.

Основное количество ЦП содержится в плазме крови и составляет 300—580 мг/л. Кроме того, ЦП присутствует также в синовиальной жидкости и в мышечных тканях. Рецепторы к ЦП обнаружены на купферовских клетках, фибробластах, астроцитах, эритроцитах, лейкоцитах и моноцитах

мембранах клеток аорты и кардиомиоцитов [33]. Такая распространенность рецепторов указывает на важную роль ЦП в организме. Процессы, в которых участвует ЦП, имеют как ферментативную, так и неферментативную природу [34].

#### **Антиоксидантное действие церулоплазмينا**

Доказано, что антиоксидантные свойства ЦП обусловлены его электроноакцепторными свойствами [35]. Благодаря высокой феррооксидазной активности ЦП предотвращает неферментативные реакции, дающие начало свободным радикалам и дальнейшему развитию ПОЛ.

Усиливая связывание окисленных ионов железа с трансферрином, ЦП исключает их из реакций ПОЛ.

Показано, что ЦП обладает супероксиддисмутазной активностью, хотя эта активность ниже, чем у внутриклеточной супероксиддисмутазы. Антиоксидантная активность ЦП объясняет его радиозащитный эффект. Известно, что важным механизмом патогенного действия ионизирующего облучения является образование активных форм кислорода. Обладая антиоксидантными свойствами, ЦП удаляет радиотоксины, образующиеся в ранний период лучевой болезни, сохраняет систему кроветворения и оказывает действие на другие функциональные защитные системы. Таким образом, данный фермент участвует в запуске механизмов повышения радиорезистентности к ионизирующему облучению. Экспериментальные исследования показали, что введение церулоплазмينا лабораторным животным до и после облучения увеличивает их выживаемость, способствует нормализации отдельных показателей гемограмм и миелограмм [36]. Церулоплазмин относится к острофазным реактантам. Концентрация его в крови повышается во время воспаления, инфекции, травматических состояний в результате активации транскрипции гена церулоплазмينا  $\alpha$ -интерфероном и цитокинами.

#### **1.4 Заболевания предстательной железы**

Предстательная железа является непарным органом мужской репродуктивной системы. По своей форме она напоминает неправильный шар, но в различные периоды жизни очертания могут меняться. Масса органа может варьироваться в зависимости от возраста мужчины, например, в возрасте от 20 до 30 лет она составляет 16 –20г. Максимальная масса здоровой железы составляет 30 г. Этот орган состоит из двух симметричных долей, соединенных перешейком, которые легко поддаются пальпации через прямую кишку. Располагается железа в малом тазу мужчины. Спереди от неё находится передняя брюшная стенка и лонное сочленение, позади находится передняя стенка прямой кишки, а под ней – мочеполовая диафрагма. Сквозь предстательную железу проходят семявыбрасывающие протоки и мочеиспускательный канал. Состоит предстательная железа на половину из железистых клеток, другая половина состоит из фиброзных и мышечных волокон.

В предстательной железе принято выделять несколько поверхностей: верхушку, основание, переднюю, заднюю и нижнелатеральную. Железа окружена капсулой, от которой в железу идут гладкие мышцы и соединительнотканые волокна, составляющие строму железы. Альвеолярно-трубчатые железы образуют ацинусы, которые разделяются стромальными перегородками. Всего простата содержит до 50 ацинусов. При выведении секрета происходит сокращений гладкомышечных волокон органа и поперечнополосатых мышц тазового дна .[37].

#### **Доброкачественная гиперплазия предстательной железы**

Аденома простаты (лат. adenomaprostatae) или доброкачественная гиперплазия предстательной железы – одно из наиболее распространенных урологических заболеваний у мужчин. Вес предстательной железы может составлять от 5-10 грамм до 200 грамм и более.

Данная патология возникает в результате разрастания клеток железистой ткани простаты. Вероятность заболеть аденомой простаты увеличивается с возрастом. Как правило, каждый второй мужчина старше 50 лет обращается к врачу по поводу аденомы предстательной железы. У молодых мужчин это заболевание встречается намного реже. Такая зависимость обусловлена возрастными изменениями гормонального фона [38].

При доброкачественной гиперплазии предстательной железы происходит разрастание мелких желез подслизистого слоя шейки мочевого пузыря, образующие три островка – два боковых, именуемых периуретральной группой, и один задний (в направлении прямой кишки), называемый перицервикальной группой, так что болезнь правильнее было бы называть аденомой периуретральных желез. Функция периуретральных желез до сих пор полностью не ясна. Предполагается, что они являются железами внутренней секреции, антагонистическими по отношению к мужским половым железам. Разрастаются при наступлении атрофических процессов в предстательной железе ко времени угасания половой активности. В образовании опухоли вовлекается не только железистая, но и мышечная и соединительная ткани, в результате чего она может иметь не только аденоматозный, но и фиброзный или миоматозный характер. Различаются аденомы также по форме - шаровидная, грушевидная, цилиндрическая, состоящая из одного или нескольких узлов, и по весу – от 5-10 грамм до 200 грамм и более.

Увеличение размеров простаты ведет к сдавливанию проходящего сквозь нее мочеиспускательного канала. В результате отток мочи усложняется. Процесс мочеиспускания начинает вызывать дискомфорт и требует дополнительных усилий. Развивается эректильная дисфункция, степень выраженности которой напрямую зависит от тяжести симптомов аденомы простаты. Переполнение мочевого пузыря ведет к развитию недержания мочи. Мышцы мочевого пузыря в начале заболевания

гипертрофируются, а со временем наступает их атония. Мочевой пузырь перестает опорожняться полностью, что чревато образованием в его полости камней, может появиться гематурия (кровь в моче). Наиболее грозным осложнением аденомы простаты является острая задержка мочи.

В настоящее время существует несколько теорий патогенеза развития ДГПЖ. Важное место занимает теория, которая гласит, что образование доброкачественной гиперплазии предстательной железы связано с изменением гормонального статуса. При старении мужского организма происходит нарушение капиллярного кровотока в предстательной железе, в следствие чего развивается гипоксия. При гипоксии усиливается перекисное окисление липидов плазматических мембран. Это способствует повышению ферментативной активности 5 $\alpha$ -редуктазы. Тестостерон и его более мощный метаболит дигидротестостерон, который образуется в ткани ПЖ под влиянием 5 $\alpha$ - редуктазы, необходимы для нормального роста и развития ПЖ. У людей в возрасте эти гормоны в избыточном количестве провоцируют гиперплазию простаты. В развитии опухолевого процесса в ПЖ определенная роль принадлежит эстрогенам, содержание которых при старении также возрастает [39].

Лабораторная диагностика осуществляется путем пальцевого исследование предстательной железы (физикальный метод обследования) и определения таких показателей, как общий анализ мочи, биохимический анализ крови (врачей интересует содержание креатинина и мочевины, маркеров состояния почек), определение ПСА (всем мужчинам старше 50 лет, для мониторинга рака предстательной железы) [40].

Если симптомы аденомы простаты выражены незначительно (1 стадия заболевания) применяется лекарственная терапия, при неэффективности последней, на 2-3 стадии – хирургическое лечение.

### **Рак предстательной железы**

Рак предстательной железы (карцинома) – это опухоль, имеющая злокачественный характер и представляющая огромную угрозу не только для половой функции, но и для жизни мужчины. Локализована карцинома в предстательной железе.

Рак предстательной железы (РПЖ) во многих странах является одним из наиболее часто встречающихся злокачественных новообразований у мужчин [41]. В последние годы отмечается невероятно быстрый рост заболеваемости РПЖ, достигающий в среднем 3% за год, что позволяет прогнозировать удвоение числа регистрируемых случаев к 2030 г. [42]. Эпидемиологические исследования показывают, что уровень заболеваемости в отдельных странах существенно различается, причем одно из первых мест по данному показателю занимают США [43].

Гистологические исследования РПЖ позволили установить специфические повреждения, которые предшествуют возникновению РПЖ. Предполагается, что прямым предшественником инвазивной карциномы являются простатические интраэпителиальные неоплазии (ПИН). При анализе аллельного дисбаланса установлено, что повреждения при ПИН имеют мультифокальную природу, причем хромосомные аномалии соответствуют таковым при раннем инвазивном раке, хотя несколько менее выражены. Это относится также к маркерам дифференцировки (Е-кадгерин, виментина), изменения которых могут присутствовать на всех стадиях прогрессии РПЖ. С другой стороны, имеют место существенные биологические отличия между ПИН и ранним инвазивным раком [44].

Очень часто на ранних стадиях канцерогенеза предстательной железы обнаруживаются делеции специфических регионов хромосомы 8p, что описано в 80% случаев РПЖ. Они касаются преимущественно участков 8p12-21 и 8p22, причем делеции в первом из них проявляются на стадиях ПИН и раннего инвазивного рака, в то время как второе повреждение характерно для более поздних стадий РПЖ.

Рак предстательной железы может длительное время протекать бессимптомно, поэтому больные в начальной стадии заболевания никаких жалоб не предъявляют.

Характерной особенностью рака предстательной железы является метастазирование в костную систему: чаще всего метастазы могут локализоваться в поясничном отделе позвоночника, в костях таза, в шейке бедра, крестце. Гораздо реже – в верхних отделах позвоночника, ребра, череп. Вероятность локализации метастаз в трубчатых костях конечностей совсем мала. Метастазы рака предстательной железы в костях у некоторых больных появляются довольно рано и служат причиной пояснично-крестцовых болей.

Выделяют 4 стадии (степени) рака предстательной железы. На первой стадии опухоль имеет микроскопические размеры и не выявляется обычными методами диагностики. При условии лечения рака на этой стадии выживаемость в течение 5 лет составляет около 100%. На второй стадии опухоль расположена в пределах предстательной железы и не выходит за ее пределы, однако может быть обнаружена с помощью трансректального УЗИ. При условии лечения на этой стадии выживаемость в течение 5 лет составляет около 100%. На третьей стадии опухоль распространилась за пределы предстательной железы на окружающие ткани (например, на семенные пузырьки). При условии лечения на этой стадии выживаемость в течение 5 лет составляет более 50%. На четвертой стадии происходит распространение опухоли в другие органы (дала метастазы). Наиболее часто рак предстательной железы дает метастазы в кости, печень, легкие. Как правило, после обнаружения болезни в 4 стадии, человек живет еще от 1 до 3 лет (в некоторых случаях более 3 лет).

Основными методами диагностики рака предстательной железы является пальцевое исследование прямой кишки, определение в крови уровня простат-специфического антигена (ПСА), биопсия, УЗИ простаты (существует 2 основных способа проведения УЗИ: трансабдоминальное УЗИ



через переднюю брюшную стенку и трансректальное УЗИ через прямую кишку). Если в результате исследований был установлен рак простаты, назначаются дополнительные анализы, которые помогают выяснить степень распространения (стадию рака простаты). К таким исследованиям относят: рентгенографию костей, сцинтиграфию (определение степени накопления специального вещества в костях, которое позволяет выявить наличие метастазов), компьютерную томографию и др.[45]. При лечении рака предстательной железы применяют медикаментозную терапию, облучение, методы оперативного вмешательства.

## **2 Материалы и методы**

### **2.1 Объект исследования**

Объектом исследования служили сыворотка крови больных аденомой (46 человек) и раком предстательной железы (33 человек). Диагноз у больных устанавливался на основании клинико – лабораторных данных и результатов ультразвукового исследования врачами больницы КНЦ СО РАН. Забор крови производили из локтевой вены натощак, без антикоагулянта, затем кровь центрифугировали при 1700g, сыворотка отбиралась для определения методик. В сыворотке больных аденомой и раком простаты определяли активность супероксиддисмутазы, содержание церулоплазмينا и мочевой кислоты.

### **2.2 Определение активности супероксиддисмутазы**

Принцип метода основан на ингибировании реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде в присутствии супероксиддисмутазы вследствие дисмутации супероксидных анион – радикалов, которые являются продуктом одного из этапов. Об интенсивности аутоокисления адреналина, исходная концентрация которого в пробе составляет 256 мкМ, судят по динамическому нарастанию поглощения при длине волны 347 нм, обусловленному накоплением продукта окисления, не описанного ранее в

литературе, и опережающим по времени образование адренохрома, имеющего максимум поглощения при 480 нм.

Реактивы:

1. Этанол – хлороформная смесь, приготовленная в соотношении 2:1.
2. 0,2 М бикарбонатный буфер, рН 11. (состоит из 2,12 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,168 NaHCO<sub>3</sub>, ЭДТА 0.064г довести до 200 мл дистиллированной водой)
3. 5,46 мМ раствор адреналина (0,1%-ный аптечный раствор).

Ход работы:

В качестве источника СОД использовалась сыворотка крови. Для ее приготовления в пробирку вносили 50 мкл упакованных эритроцитов и 450 мкл дистиллированной воды, которую предварительно охладили до 0°С. Мешающие влияния Нв устраняют добавлением 250 мкл этанол – хлороформной смеси. После этого пробы перемешивают и оставляют при комнатной температуре на 10 мин. Для определения активности СОД использовали супернатант. Последовательность внесения реагентов в пробы представлена в табл.1.

Таблица 1 – Компоненты контрольных и опытной проб

Реагенты	Контрольная проба 1	Контрольная проба 2	Опытная проба
0,2 М бикарбонатный буфер, рН 11	3 мл	3 мл	3 мл
Дистиллированная вода(H <sub>2</sub> O)	0,05 мл	0,05 мл	-
Супернатант	-	-	0,05 мл
5,46 мМ раствор адреналина	-	0,15 мл	0,15 мл

После того, как в контрольную пробу 2, содержащую бикарбонатный буфер, внесли адреналин, содержимое кюветы тщательно перемешивают.

Изменение оптической плотности регистрируют через каждые 30 с в течение 3 мин в кювете с толщиной слоя 1,0 см против буферного раствора (контрольная проба 1). Аналогичным образом поступают с опытной пробой. Для расчета активности СОД используют показатели величины поглощения контрольной пробы 2 и опытной пробы. Активность фермента выражают в единицах активности на литр плазмы, либо на грамм белка (за единицу активности СОД принято 50%-ное ингибирование реакции окисления адреналина).

Расчет:

$$A = \frac{\Delta E \times V \times f}{50 \times v \times t(\text{мин})},$$

$$\Delta E = \frac{(E_x - E_o) \times 100\%}{E_x},$$

V- объем пробы

f – разведение

v – объем вносимого супернатанта

t – время измерения

E<sub>x</sub>- экстинкция холостой пробы;

E<sub>o</sub> – экстинкция опытной пробы;

50 – 50% ингибирование активности СОД.

Активность фермента выражают в единицах активности в мин на грамм белка или л плазмы.

### **2.3 Определение содержания церулоплазмينا в плазме крови модифицированным методом Ревина**

Принцип метода:

Определение содержания церулоплазмينا( ЦП) основано на окислении р-фенилендиамина при участии церулоплазмينا.

#### Реактивы:

1. 0,4 М ацетатный буфер (рН 5,5), для его приготовления смешивали растворы 1 и 2 (в соотношении 9:1): 1-й раствор- 54,44 г ацетата натрия помещали в мерную колбу на 1 л и довели дистиллированной водой до метки, и 2-й раствор- 22,6 мл ледяной уксусной кислоты растворяли и довели до метки 1 л дистиллированной воды.
2. 1.3 %-ный раствор фтористого натрия.
3. 0,5%-ный раствор солянокислого р-фенилендиамина.

#### Ход работы:

В контрольную и опытные пробирки вносят по 0,1 мл сыворотки и 8 мл ацетатного буфера. В контрольную пробирку добавляют 2 мл раствора фтористого натрия (для инактивации ферментативной активности церулоплазмينا). Затем в пробирки вносят по 1 мл раствора солянокислого р-фенилендиамина. Пробирки встряхивают, помещают в термостат и инкубируют в течение часа при температуре 37°C. После завершения инкубации во все пробирки кроме контрольной добавляют по 2 мл раствора фтористого натрия. Содержимое пробирок перемешивают, переносят в холодильник на 30 мин. Пробы колориметрируют против контроля (бледно-розовой окраски) в кюветах с толщиной слоя 1,0 см при длине волны 530 нм.

Для расчета концентрации ЦП в мг/л значение оптической плотности умножали на коэффициент пересчета 875 и получали величину:

ЦП (мг/мл) =  $D \cdot 875$ , где D-оптическая плотность анализируемого образца.[46].

## 2.4 Определение содержания мочевой кислоты

Принцип метода:

О содержании мочевой кислоты судили по интенсивности окраски, которая возникает в процессе окисления хромогена перекисью водорода, образующейся при воздействии на мочевую кислоту уриказы и пероксидазы. Интенсивность окраски пропорциональна концентрации мочевой кислоты в пробе.

Мочевую кислоту определяем с помощью специального набора реагентов для определения концентрации мочевой кислоты в биологических жидкостях энзиматическим колориметрическим методом фирмы BioSystems

Реактивы:

1. Реагент. Фосфат (100 ммоль/л); детергент 1.5 г/л, дихлорфенолсульфонат (4 ммоль/л); уриказа > 0,12 Ед/мл, аскорбатоксидаза >5 Ед/мл, пероксидаза > 1 Ед/мл, 4-аминоантипирин 0,5 ммоль/л, рН 7.8

2. Стандарт мочевой кислоты: мочевая кислота 6 мг/дл (357 мкмоль/л).

Первичный водный стандарт.

Реагент и стандарт поставляются готовыми к использованию.

Ход работы:

1. Подогреть реактивы до комнатной температуры.
2. Разлить реактивы в подписанные пробирки согласно таблице 2.

Таблица 2 – Порядок внесения реагентов в пробирки

Реагенты	Холостая проба	Стандарт	Образец
Дистиллированная вода	25 мкл	-	-
Мочевая кислота (S)	-	25 мкл	-
Стандарт	-	-	25 мкл
Образец Реагент (A)	1,0 мл	1,0 мкл	1,0 мл

3. Тщательно перемешать и инкубировать пробирки в течение 10 мин при комнатной температуре (16-25 °С) или в течение 5 мин при 37°С.

4. Измерить абсорбцию (А) стандарта и образца при 520 нм против холостой пробы. Окраска сохраняется в течение 30 мин.

Расчет:

Расчет концентрации мочевой кислоты в образце вычисляется по следующей формуле:

$$\frac{A_{об}}{A_{ст}} * C_{ст} * \Phi\text{-р разведения образца} = C_{об}$$

При использовании поставляемого стандарта мочевой кислоты для калибровки (примечание 1):

	Сыворотка и плазма
$\frac{A_{об}}{A_{ст}}$	хб= мг/дл мочевой кислоты х357=мкмоль/л мочевой кислоты

## 2.5 Статистическая обработка результатов

Для обработки полученных результатов использовались программы Statistica 8 и Microsoft Office Excel 2007 в Windows. Обработка полученных данных осуществлялась путем подсчета медианы, интерквартильного разброса (С<sub>25</sub> – С<sub>75</sub> процентили). Достоверность различий между больными аденомой и раком предстательной железы и контролем оценивалась по критерию Манна-Уитни. Различия считались значимыми при p≤0,05.

### **3 Результаты исследования и их обсуждения**

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

## **Список использованных источников:**

1. Донцов В.И., Крутько В.Н. / Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении // труды ИСЫ РАН 2006 т.19.-С 51.
2. Турпаев К.Т. / Активные формы кислорода и регуляция экспрессии генов// Биохимия, 2002, т. 67, вып. 3, с. 339-352.
3. Karin M., Lin A. NF-kB at the crossroads of life and death, Nature Immunol., 2002, v.3, p. 221-227.
4. Wolin M.S. Interaction of oxidant with vascular signaling systems Arterioscler. Thromb.Vasc. Biol., 2000, v. 20, p. 1430-1442
5. Davis R.I. Signal transduction by the c-Jun N-terminal kinase (JNK) from inflammation to development, Cell. Biol., 1998, v. 10, p. 205-219.
6. Diehl N.L., Enslen H., Fortner K.A., Merritt C. et al. Activation of the p38 mitogen-activated protein kinase pathway arrests cell cycle progression and differentiation of immature thymocytes in vivo. J.Exp.Med., 2000, v.191, p. 324-334
7. R. Moreno-Loshuertos et al. 2006 Differences in reactive oxygen species production explain the phenotypes associated with common mouse mitochondrial DNA variants // Nature genetics 38, 11, 1261-1268
8. Журавлев, А.И. Аниоксиданты. Свободно-радикальная патология / А.И. Журавлев, С.М. Зубкова// – М.: ФГОУ ВПО МГАВМ и Б. им К.И. Скрябина, 2008. – 269 с.
9. Донцов, В. И. Активные формы кислорода как система: значение в физиологии, патологии и естественном старении / В. И. Донцов и [др.] //Труды ИСА РАН. – 2006. – Т. 19. – С.51
10. Пасечник, И. Н. Механизмы повреждающего действия активированных форм кислорода на биологические структуры у больных в критических состояниях / И. Н. Пасечник // Вестник интенсивной терапии. - 2001. – №4. – С. 3-7.



11. Путилина, Ф.Е. Свободнорадикальное окисление / Ф. Е. Путилина и [др.]// – Спб., 2008. – 161 с
12. Маркеры воспаления и оксидативного стресса. Группа компаний «БиоХиммак»/Электронный ресурс: [Режим доступа]: <https://biochemmack.ru>
13. Подколзин А.А. Профилактика старения, продление жизни и биоактивация/ А.А. Подколзин и [др.]// -Мск.,1999. №2
14. Оксидативный стресс/[Электронный ресурс]/- Режим доступа: <https://www.lvrach.ru>
- 15.
16. Lapinski, R. Oxidants and antioxidants of erythrocytes / R. Lapinski, M. Siergiejuk , A. Worowska// Prog Health Sciences. – 2014. - Vol 4, No 1. - P. 212
17. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress [Text] / Isabella DalleDonnea [et al.] // Clinica Chimica Acta.- 2003.- Vol.329.- P.23–38.
18. Ribeiro, T. P. Iron, copper, and manganese complexes with in vitro superoxide dismutase and/or catalase activities that keep *Saccharomyces cerevisiae* cells alive under severe oxidative stress/ T. P. Ribeiro [et al.]// Free Radical Biology and Medicine. – 2015. – V. 80. – p. 67-76.
19. Bhattacharyya, A. Oxidative Stress: An Essential Factor in the Pathogenesis of Gastrointestinal Mucosal Diseases/ A. Bhattacharyya// Physiol. Rev. – 2014. – V. 94, № 2. – p. 329-354.
20. Сухоруков, В.С. Клиническое значение индивидуальных особенностей митохондриальной ДНК/ В.С. Сухоруков и [др.]// Научная статья по специальности «Медицина и здравоохранение». -2015.
21. Муравлева, Л.Е. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования/ Л.Е. Муравлева и [др.] // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1 – С. 74-78
22. Продукция активных форм кислорода/[Электронный ресурс]/- Режим доступа: <http://medicalplanet.su>

23. Кения, М.В. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе / М.В.Кения, А.И. Лукаш, Е.П. Гуськов// Успехи современной биологии, 1993. Т.113 №4. С 456-470.
24. Зенков, Н.К.Окислительный стресс. Диагностика, терапия, профилактика/ Н.К.Зенков, Е.Б.Меньшикова, С.М. Шергин//- Новосибирск. 1993.-181с
25. Антиоксидантная служба здоровья/[Электронный ресурс]/Режим доступа:www. Fit-leader.com
26. Б. Галунска, Д. Паскалев // двуликий янус биохимии: мочева кислота - оксидант / нефрология. 2004 том 8 №4
- 27.Скулачев В.П. Пероксид водорода – сенсор легких и кровеносных сосудов и их роль в антиоксидантной защите организма / СкулачевВ.П.// - Биохимия 2001.- Т.66.- №10- С.1425-1429.
28. Takahashi N., Ortel T.L., Putnam F. W. Single-chain structure of human ceruloplasmin: the complete amino acid sequence of the whole molecule. // Proc. Nat. Acad. Sci. — 1984. — Vol. 81. — P. 390-394.
29. Chen J., Anderson J.B., DeWeese-Scott C. et al. MMDB: Entrez's 3D — structure database. // Nucleic Acids Res. — 2003. — Vol. 31, N 1. — P. 474-477.
30. Sato M., Schilsky M.L., Stockert R.J. et al. Detection of multiple forms of human ceruloplasmin. // J. Biol. Chem. —1990. — Vol. 265, N 5. — P. 2533-2537.
31. Verbina I.A., Puchkova L.V., Gaitskhoki V.S., Neifakh S.A. Isolation and partial characterization of molecular forms of ceruloplasmin from human bile. // FEBS Lett. — 1992. — Vol. 298, N 2, 3. — P. 105-108.
32. Alcain F.J., Low H., Crane F.L. Ceruloplasmin stimulates thymidine incorporation by CCL — 39 cells in the absence of serum of growth factors. // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 1991. — Vol. 180, N 2. — P. 790-796.

33. Stevens M.D., DiSilvestro R.A., Harris E.D. Specific receptor for ceruloplasmin in membrane fragments from aortic and heart tissues. // *Biochemistry*. — 1984. — Vol. 23, N 2. — P. 261-266.

34. Floris G., Medda R., Padiglia A., Musci G. The physiopathological significance of ceruloplasmin. A possible therapeutic approach. // *Biochem. Pharmacol.* — 2000. — Vol. 60, N 12. — P. 1735-1741.

35. Connor J.R., Bencovic A. Iron regulation in the brain: histochemical, biochemical and molecular considerations. // *Ann. Neurol.* — 1992. — Vol. 32, Suppl. — S. 51-36. Бердинских Н.К., Антоненко С.Г., Волощенко Ю.В. и др. Роль церулоплазмينا в резистентности организма к рентгеновскому облучению. // *Радиобиология*. — 1984. — Т. 24, № 2. — С. 199-203.

37.Простатит./ Электронный ресурс: [Режим доступа]: <https://kaklechatprostatit.ru>

38.Простатит. Проблема молодых./[Электронный ресурс]/- Режим доступа: <https://medportal.ru>

39.Активность глутатионредуктазы и содержание простатоспецифического агента в крови при доброкачественных и злокачественных гиперплазиях предстательной железы / П.Г. Сторожук, А.И. Цыганков //Кубанский государственный медицинский университет, г.Краснодар,2006.- 93-94 с.

40. Рак предстательной железы и его диагностика/[Электронный ресурс]/- Режим доступа: <https://www.ru-med.com.ua>

41.Ruijter E., van De Каа С., Miller G. et al. Molecular genetics and epidemiology of prostate carcinoma// *Endocrin. Rev.* – 1999. – Vol. 20. – P. 22–45

42. Boyle P., Maisonneuve P., Napalkov P. Incidence of prostate cancer will double by the year 2030: arguments// *Europ. J. Urol.* – 1996. – Vol. 29 (suppl. 2). – P. 3–9.

43. Watanabe M., Nakayama T., Shiraishi T. et al. Comparative studies of prostate cancer in Japan versus United States. A review// *Urol. Oncol.* – 2000. – Vol. 5. – P. 274–283

44. Haqqman M.Y., Manoska J.A., Woino K.J., Oesterling J.E. The relationship between prostate intraepithelial neoplasia (PIN) and prostate cancer. Critical issues// J. Urol. – 1997. – Vol. 158. – P. 12–22.

45. Рак предстательной железы. Методы диагностики / [Электронный ресурс] /- Режим доступа: <http://onkolog-24.ru>29

46. Титова, Н.М. Оценка структурно-функционального состояния клетки: методические указания к практическим занятиям / Н.М.Титова и [др.]- Красноярск, 2009.- 60 с.

47. Борисова, В.В. Содержание продуктов окислительной модификации белков и липидов при заболеваниях предстательной железы: выпускная квалификационная работа: 06.03.01 Биология/В.В. Борисова.- Красноярск, 2018. 38с.

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

Институт фундаментальной биологии и биотехнологии  
Кафедра медицинской биологии

УТВЕРЖДАЮ

Заведующий кафедрой



Е. И. Шишацкая

« 18 » июня 2018 г.

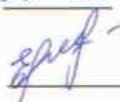
БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

06.03.01 – Биология

Анализ антиоксидантной активности сыворотки крови  
при патологиях простаты

Научный руководитель  18.06.18 доцент, к.б.н Н.М. Титова

Выпускник



18.06.18

О. А Ефимова

Красноярск 2018