

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра биохимии

ХРУЦКИН
Валерий Юрьевич

НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ
ФОСФОЛИПАЗЫ A₂ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЯХ

Магистерская диссертация
специальность 1-31 80 11 «Биохимия»

Научный руководитель:
Шадыро Олег Иосифович
доктор химический наук,
профессор

Допущена к защите
«___» _____ 2021 г.
Зав. кафедрой биохимии
Семак Игорь Викторович
кандидат биологических наук, доцент

Минск, 2021

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Магистерская диссертация, 83 страниц, 16 рисунков, 8 таблиц, 47 источников, 2 приложений.

НОВЫЕ БИОМАРКЕРЫ ДЛЯ ОЦЕНКИ АКТИВНОСТИ ФОСФОЛИПАЗЫ A_2 ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПАТОЛОГИЯХ.

Объект исследования: Фосфолипаза A_2 .

Предмет исследования: Новые биомаркеры для оценки активности фосфолипазы A_2 .

Цель исследования: Анализ новых биомаркеров фосфолипазы A_2 для оценки ферментативной активности при протекании различных патологических процессов.

Задачи исследования:

1. Охарактеризовать с биохимической точки зрения как фермент фосфолипазу A_2 , его изоформы и их классификацию и нормальную биологическую роли в человеческом организме.
2. Рассмотреть наиболее распространённые формы патологии организма человека, в патогенезе которых ключевую роль играет повышенная активность изоформ фосфолипазы A_2 .
3. Проанализировать продукты гидролиза фосфолипидов (карбоновая кислота и лизофосфолипид) с участием фосфолипазы A_2 и их значение для метаболизма организма.
4. Обозначить роль АФК в организме человека, их сопряжение с активностью фосфолипазы A_2 и основные типы свободнорадикальных процессов.
5. Рассмотреть продукты (пальмитоксиацетон, стеароксиацетон) свободнорадикальной фрагментации лизофосфолипидов как биомаркеры оценки активности фосфолипазы A_2 .
6. Сопоставить рассматриваемые биохимические маркеры с ранее известными (маркеры ПОЛ) как уникальные и отражающие редокс-статус биосистемы.
7. Провести анализ данных исследования концентраций новых биомаркеров в образцах сыворотки здоровых доноров разного пола, возраста и группы крови (система АВ0, резус-фактор), полученных методом газовой хроматографии, совмещённой с масс-спектрометрией.
8. Сделать вывод о полученных результатах исследования, проведённого в рамках магистерской диссертации, и значении для

потенциального применения на практике данных результатов о новых биомаркерах для оценки активности фосфолипазы A₂.

В первой главе представлен литературный обзор, связанный с рассматриваемым проблемным полем. Разделы первой главы посвящены особенностям классификации, структуры, каталитической активности и нормальным биологическим функциям различных изоформ PLA₂s, кроме того рассматриваются как формы патологии, патогенез которых ассоциирован в значительной степени с активностью PLA₂s, так и реакции, протекающие по свободнорадикальным механизмам, и которым подвержены липиды биологических мембран. В дополнение уделено внимание лизофосфолипидам, и приведены общие сведения об их разнообразии и биологической активности.

Во второй главе приведена методика проведения эксперимента и её валидация. В третьей главе продемонстрированы обработанные результаты эксперимента по данной методике с их обсуждением. Сделаны заключения о концентрации исследуемых биомаркеров в проанализированных образцах сыворотки здоровых доноров и их потенциальном применении для оценки активности PLA₂s.

Перечень ключевых слов:

БИОМАРКЕР, ГАЗО-ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОМАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ, ЛИЗОФОСФАТИДИЛХОЛИН, ЛИЗОФОСФОЛИПИДЫ, ПАЛЬМИТОКСИАЦЕТОН, ПАТОЛОГИЯ, ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, СВОБОДНОРАДИКАЛЬНАЯ ФРАГМЕНТАЦИЯ, СТЕАРОКСИАЦЕТОН, ФОСФАЛИПАЗА A₂, COVID-19.

АГУЛЬНАЯ ХАРАКТЭРЫСТЫКА РАБОТЫ

Магістарская дысэртацыя, 83 старонак, 16 малюнкаў, 8 табліц, 47 крыніц, 2 дадаткаў.

НОВЫЯ БІЯМАРКЕРЫ ДЛЯ АЦЭНКІ АКТЫЎНАСЦІ ФАСФАЛІПАЗЫ A_2 ПРЫ РОЗНЫХ ПАТАЛОГІЯХ.

Аб'ект даследавання: Фасфаліпаза A_2 .

Прадмет даследавання: Новыя біямаркеры для ацэнкі актыўнасці фасфаліпазы A_2 .

Мэта даследавання: Аналіз новых біямаркераў фасфаліпазы A_2 для ацэнкі ферментатыўнай актыўнасці пры праходжанні розных паталагічных працэсаў.

Задачы даследавання:

1. Ахарактарызаваць з біяхімічнага пункту гледжання як фермент фасфаліпазу A_2 , яго ізаформы і іх класіфікацыю і нармальную біялагічную ролю ў чалавечым арганізме.

2. Разгледзець найбольш распаўсюджаныя формы паталогіі арганізма чалавека, у патагенезе якіх ключавую ролю адыгрывае павышаная актыўнасць ізаформ фасфаліпазы A_2 .

3. Прааналізаваць прадукты гідролізу фасфаліпідаў (карбонавая кіслата і лізафасфаліпід) з удзелам фасфаліпазы A_2 і іх значэнне для метабалізму арганізма.

4. Пазначыць ролю АФК ў арганізме чалавека, іх спалучэнне з актыўнасцю фасфаліпазы A_2 і асноўныя тыпы свабоднарадыкальных працэсаў.

5. Разгледзець прадукты (пальмітокісцэтон, стеарокісцэтон) свабоднарадыкальнай фрагментацыі лізафасфаліпідаў як біямаркераў ацэнкі актыўнасці фасфаліпазы A_2 .

6. Супаставіць разглядаемыя біяхімічныя маркеры з раней вядомымі (маркеры ПАЛ) як унікальныя і якія адлюстроўваюць рэдокс-статус біясістэмы.

7. Правесці аналіз даных даследавання канцэнтрацый новых біямаркераў ва ўзорах сывараткі здаровых донараў рознага полу, ўзросту і групы крыві (сістэма АВ0, рэзус-фактар), атрыманых метадам газавай храматаграфіі, сумешчанай з мас-спектраметрыяй.

8. Зрабіць вывад аб атрыманых выніках даследавання, праведзенага ў рамках магістарскай дысэртацыі, і значэнні для патэнцыйнага прымянення на практыцы дадзеных вынікаў аб новых біямаркерах для ацэнкі актыўнасці фасфаліпазы A_2 .

У першай главе прадстаўлен літаратурны агляд, звязаны з разглядаемым праблемным полем. Раздзелы першай главы прысвечаны асаблівасцям

класифікації, структури, каталітичній активності і нормальним біологічним функціям різних ізоформ PLA₂s, окрім того розглядаючи як форми патології, патогенез яких асоціювалися з значною ступенню PLA₂s, так і реакції, які проходять на самодинамічними механізмами, і якими схильні ліпіди біологічних мембран. У додаток надана увага лізофосфоліпідам, і приведені загальні висновки про їх динамічність і біологічну активність.

У другій главі приведено методику проведення експерименту і його валідація. У третій главі продемонстровано отримані результати експерименту на зазначеній методиці з їх аналізом. Зроблені висновки про концентрації досліджуваних біомаркерів у проаналізованих зразках сироватки здорових донорів і їх патентним використанням для оцінки активності PLA₂s.

Перелік ключових слів:

БИОМАРКЕР, ГАЗА-ВАДКАСНАЯ ХРОМАТОМАС-СПЕКТРАМЕТРИЯ, ЛИЗОФАСФАТИДЛИН, ЛИЗОФАСФОЛИПЫ, ПАЛЬМИТОКСИЦЕТОН, ПАТОЛОГИЯ, ПЕРАКИСНОЕ АКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ, САМОДИНАМИЧЕСКАЯ ФРАГМЕНТАЦИЯ, СТЕАРОКСИЦЕТОН, ФАСФОЛИПАЗА A₂, COVID-19.

GESAMTCHARAKTERISTIK DER ARBEIT

Magisterarbeit, 83 Seiten, 16 Abbildungen, 8 Tabellen, 47 Quellen, 2 Anhänge.
NEUE BIOMARKER ZUR BEWERTUNG DER PHOSPHOLIPASE A₂-
AKTIVITÄT BEI VERSCHIEDENEN PATHOLOGIEEN.

Das Untersuchungsobjekt: Phospholipase A₂.

Der Untersuchungsgegenstand: neue Biomarker der Phospholipase A₂ in pathologischen Prozessen.

Der Untersuchungszweck: Analyse neuer Biomarker der Phospholipase A₂ zur Beurteilung der enzymatischen Aktivität während verschiedener pathologischer Prozesse.

Die Forschungsschwerpunkte:

1. Von biochemischer Gesichtspunkt als Enzym die Phospholipase A₂, ihre Isoformen und ihre biologische Rolle im menschlichen Körper zu charakterisieren.
2. Die häufigsten Pathologien im menschlichen Körper, bei denen die erhöhte Aktivität der Phospholipase A₂-Isoformen eine Schlüsselrolle spielt, zu betrachten.
3. Die Hydrolyseprodukte von Phospholipiden (Carbonsäure und Lysophospholipid) unter Beteiligung von Phospholipase A₂ und ihrer Bedeutung für den Stoffwechsel des Körpers zu analysieren.
4. Die Rolle von ROS im menschlichen Körper, ihre Konjugation mit der Aktivität von Phospholipase A₂ und die wichtigsten Arten von freien radikalischen Vorgängen (Radikaloxydation und Fragmentation) zu bezeichnen.
5. Die Produkte (Palmitoxyaceton, Stearoxyaceton) der freien radikalischen Fragmentation von Lysophospholipiden durch freie Radikale als Biomarker zur Beurteilung der Aktivität von Phospholipase A₂ zu betrachten.
6. Die betrachteten biochemischen Marker mit den bisher bekannten (LPO-Markern) als eindeutige und den Redoxstatus des Biosystems widerspiegelnde zu vergleichen.
7. Die Forschungsdaten über die Konzentrationen neuer Biomarker in Serumproben von gesunden Blutspendern unterschiedlichen Geschlechts, Alters und Blutgruppe (AB0-System, Rh-Faktor), die durch Gaschromatographie in Kombination mit Massenspektrometrie gewonnen wurden, zu analysieren.
8. Eine Schlussfolgerung über die gewonnenen Ergebnisse der im Rahmen der Magisterarbeit durchgeführten Studie und die Bedeutung dieser Ergebnisse über neue Biomarker für die mögliche Anwendung in der praktischen Umsetzung zur Bewertung der Phospholipase A₂-Aktivität zu ziehen.

Im ersten Kapitel wird eine Literaturübersicht zum betrachteten Problemfeld vorgestellt. Abschnitte des ersten Kapitels sind den Merkmalen der Klassifikation, Struktur, katalytischen Aktivität und den normalen biologischen Funktionen verschiedener PLA₂-Isoformen gewidmet, außerdem werden sowohl die Formen der Pathologie betrachtet, deren Pathogenese zu einem großen Teil mit der Aktivität von PLA₂ zusammenhängt, als auch Reaktionen, die durch Mechanismen freier Radikale verlaufen und denen Lipide biologischer Membrane ausgesetzt sind. Darüber hinaus wird auf Lysophospholipide geachtet und allgemeine Informationen zu ihrer Vielfalt und biologischer Aktivität gegeben.

Das zweite Kapitel beschreibt die experimentelle Methodik und ihre Validierung. Das dritte Kapitel demonstriert die verarbeiteten Ergebnisse des Versuchs mit dieser Methodik mit einer Diskussion darüber. Es wurden Schlussfolgerungen über die Konzentration der untersuchten Biomarker in den analysierten Serumproben von gesunden Blutspendern und deren potenzielle Verwendung zur Bewertung der Aktivität von PLA₂ gezogen.

Die Liste der Schlüsselwörter:

BIOMARKER, GAS-FLÜSSIGKEITS-CHROMATOGRAPHIE-
MASSENSPEKTROMETRIE, LYSOPHOSPHATIDYLCHOLIN,
LYSOPHOSPHOLIPIDE, PALMITOXYACETON, PATHOLOGIE,
LIPIDPEROXIDATION, FREIE RADIKALE FRAGMENTATION,
STEAROXYACETON, PHOSPHALIPASE A₂, COVID-19.