

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра биохимии

ШЕСТОПАЛОВА

Ангелина Викторовна

**АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ В ПЕЧЕНИ И
КРОВИ КРЫС С ИНДУЦИРОВАННЫМ МЕТАБОЛИЧЕСКИМ
СИНДРОМОМ ПРИ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ
ЛАКТОФЕРРИНОМ**

Дипломная работа

Научный руководитель:

Старший преподаватель кафедры

биохимии

Д.И. Максимович

Допущена к защите

«___»_____2022 года

Зав. кафедрой биохимии

кандидат биологических наук, доцент И.В. Семак

Минск, 2022

РЭФЕРАТ

Дадзеная работа выканана на пяцідзесяці сямі старонках машынапіснага тэксту, уключае чатыры табліцы і два малюнкi. Для напісання выкарыстоўвалася восемдзесят пяць крыніц літаратуры.

Аб'ект даследавання: дарослыя самцы пацукоў лініі Wistar, вагой 350 г.

Мэта даследавання: вывучэнне залежнай ад узроўню акісляльнага стрэсу актыўнасці антыаксідантных ферментаў: супероксиддисмутазы ў гамагенаце печані і гемолізаце крыві пацукоў і церулаплазмiна ў сыворотцы крыві пацукоў у рамках мадэлі эксперыментальнага метабалічнага сіндрому на фоне сістэматычнага ўвядзення лактаферыну.

Асноўныя метады даследавання: спектрафатометрычны і статыстычны.

Назіранні і даследаванні праводзіліся ў біяхімічнай лабараторыі на базе кафедры біяхіміі біялагічнага факультэта БДУ ў перыяд з лістапада 2021 года па май 2022 года.

Асноўныя вынікі даследавання:

1. Галоўным фактарам акісляльнага стрэсу ў арганізме ва ўмовах мадэлявання метабалічнага сіндрому з'яўляецца залішняе спажыванне высокакаларыйнай салодкай ежы.

2. Инсулинорезистентность выклікаецца дзеяннем малекул транспарцёраў глюкозы, рэакцый фасфарыявання і дэфасфарыявання ферментаў, якія ўдзельнічаюць у глікагенным і ліпідным сінтэзе, парушэннем актыўнасці рэцэптарных тирозинкиназ, якія губляюць здольнасць узаемадзейнічаць з самім рэцэптарам да інсуліну.

3. Инсулинорезистентность вядзе да гіперфункцыі падстраўнікавай залозы і з'яўляецца прычынай гиперинсулинемии і дысліпідэміі.

4. У ходзе даследавання было выяўлена, што развіццё метабалічнага сіндрому суправаджаецца ростам на 28% удзельнай актыўнасці супероксиддисмутазы ў гемолізат эрытрацытаў крыві пацукоў. Гэта сведчыць аб тым, што ўзровень генерацыі актыўных формаў кіслароду адпавядае лёгкай ступені цяжкасці эндагеннай інтаксікацыі, пры якой павышэнне колькасці актыўных формаў кіслароду цягне за сабой гіперактывацыю антыаксідантных ферментаў.

5. Было выяўлена, што ў гамагенаце печані акісляльныя працэсы працякаюць з іншай інтэнсіўнасцю. Зніжэнне ў 3 разы ўдзельнай актыўнасці супероксиддисмутазы на фоне развіцця метабалічнага сіндрому кажа аб цяжкай ступені эндагеннай інтаксікацыі, якая непарыўна звязана з

пашкоджаннем актыўнымі формамі кіслароду саміх бялковых субадзінак дадзенага фермента антыаксідантнай абароны.

6. У працэсе даследавання таксама назіралася павышэнне канцэнтрацыі церулоплазміна на 20% у сыватцы крыві пацукоў. Гэта сведчыць аб тым, што развіццё метабалічнага сіндрому працякае з развіццём хранічнага запаленчага працэсу і акісляльнага стрэсу, што цягне за сабой павышэнне канцэнтрацыі ў крыві церулоплазміну - бялку вострай фазы і антыаксіданта.

7. Узровень акісляльнага стрэсу - дэфекту, выкліканага метабалічным сіндромам - можна значна панізіць шляхам увядзення лактаферыну. Акрамя таго, лактаферын дазваляе павысіць удзельную актыўнасць супераксіддысмутазы. Прадстаўленыя дадзеныя пацвярджаюць антыаксідантнае дзеянне лактаферыну, якое выяўляецца ў здольнасці павышаць актыўнасць антыаксідантных ферментаў.

8. У досведзе з вызначэннем утрымання ў крыві церулоплазміна, лактаферын прадэманстраваў супрацьзапаленчыя ўласцівасці, панізіўшы канцэнтрацыю бялку вострай фазы запалення на 25% у сыватцы крыві пацукоў з метабалічным сіндромам, што ў чарговы раз даказвае, што лактаферын валодае супрацьзапаленчымі і антыаксідантнымі ўласцівасцямі што ён здольны змяншаць узровень хранічнага запалення і акісляльнага стрэсу на фоне метабалічнага сіндрому.

Ключавыя словы: антыаксідантныя ферменты, актыўныя формы кіслароду, супероксиддысмутаза, церулоплазмін, метабалічны сіндром, акісляльны стрэс, инсулінорезистентность, лактаферын.

ABSTRACT

This work is made on fifty-seven pages of typewritten text, includes four tables and two figures. Eighty-five sources of literature were used for writing.

Object of study: adult male Wistar rats, weighing 350 g.

The purpose of the study was to study the activity of antioxidant enzymes dependent on the level of oxidative stress: superoxide dismutase in the liver homogenate and hemolysate of rat blood and ceruloplasmin in the blood serum of rats in the framework of the experimental metabolic syndrome model against the background of the systematic administration of lactoferrin.

Main research methods: spectrophotometric and statistical.

Observations and studies were carried out in the biochemical laboratory at the Department of Biochemistry, Faculty of Biology, Belarusian State University from November 2021 to May 2022.

The main results of the study:

1. The main factor of oxidative stress in the body under the conditions of modeling the metabolic syndrome is excessive consumption of high-calorie sweet foods.

2. Insulin resistance is caused by the action of glucose transporter molecules, phosphorylation and dephosphorylation reactions of enzymes involved in glycogen and lipid synthesis, impaired activity of receptor tyrosine kinases, which lose the ability to interact with the insulin receptor itself.

3. Insulin resistance leads to hyperfunction of the pancreas and is the cause of hyperinsulinemia and dyslipidemia.

4. In the course of the study, it was found that the development of the metabolic syndrome is accompanied by a 28% increase in the specific activity of superoxide dismutase in the hemolysate of rat blood erythrocytes. This suggests that the level of generation of reactive oxygen species corresponds to the mild severity of endogenous intoxication, in which an increase in the amount of reactive oxygen species leads to hyperactivation of antioxidant enzymes.

5. It was found that oxidative processes in the liver homogenate proceed with a different intensity. A 3-fold decrease in the specific activity of superoxide dismutase against the background of the development of the metabolic syndrome indicates a severe degree of endogenous intoxication, which is inextricably linked with damage to the protein subunits of this antioxidant defense enzyme by reactive oxygen species.

6. During the study, an increase in the concentration of ceruloplasmin by 20% in the blood serum of rats was also observed. This suggests that the development of the metabolic syndrome proceeds with the development of a chronic inflammatory process and oxidative stress, which entails an increase in the blood concentration of ceruloplasmin, an acute phase protein and an antioxidant.

7. The level of oxidative stress - a defect caused by the metabolic syndrome - can be significantly reduced by the introduction of lactoferrin. In addition, lactoferrin can increase the specific activity of superoxide dismutase. The presented data confirm the antioxidant effect of lactoferrin, which is expressed in the ability to increase the activity of antioxidant enzymes.

8. In the experiment with the determination of the content of ceruloplasmin in the blood, lactoferrin demonstrated anti-inflammatory properties, lowering the concentration of the protein of the acute phase of inflammation by 25% in the blood serum of rats with metabolic syndrome, which once again proves that lactoferrin has anti-inflammatory and antioxidant properties and confirms that it is able to reduce the level of chronic inflammation and oxidative stress against the background of metabolic syndrome.

Key words: antioxidant enzymes, reactive oxygen species, superoxide dismutase, ceruloplasmin, metabolic syndrome, oxidative stress, insulin resistance, lactoferrin.

ВВЕДЕНИЕ

21 век характеризуется тенденцией к возрастанию диагностируемых лиц с метаболическим синдромом (МС). Данное патологическое состояние характеризуется наличием у одного пациента тканевой инсулинорезистентности, гиперинсулинемии, нарушения толерантности к глюкозе, первичной артериальной гипертензии, дислипидемии, а также абдоминального ожирения. Следует отметить, что на фоне метаболического синдрома у лиц обоих полов риск развития инфаркта миокарда и инсульта в 3 раза выше по сравнению с пациентами без данного синдрома. К настоящему времени доказано, что ожирение — важная составляющая метаболического синдрома, независимый фактор риска для ряда социально значимых заболеваний — артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, сахарного диабета 2 типа, заболеваний почек и печени, а также фактор риска преждевременной смерти [1].

Распространенность метаболического синдрома в последнее время возрастает в развитых странах. По данным ВОЗ в 2016 году более 1,9 миллиарда взрослых старше 18 лет имели избыточный вес. Из них свыше 650 миллионов страдали ожирением. Полагают, что к 2025 году ожирением будут страдать 40% мужчин и 50% женщин [1].

Одним из дефектов развития метаболического синдрома и сопровождающих его последствий, является накопление активных форм кислорода (АФК), что в свою очередь связано со снижением антиоксидантной защиты организма.

Антиоксидантная система (АОС) выполняет функцию сохранения окислительно-восстановительного гомеостаза при активации прооксидантных процессов за счет эффективного ответа комплекса антиоксидантных ферментов и некоторых неферментных ловушек свободных радикалов. Одним из ключевых ферментов, катализирующих разложение активных форм кислорода, является супероксиддисмутаза (СОД).

Супероксиддисмутаза — антиоксидант, представляющий первое звено защиты. Этот фермент находится во всех клетках, потребляющих кислород. Роль супероксиддисмутазы заключается в ускорении реакции превращения токсичного для организма кислородного радикала — супероксида — в перекись водорода и молекулярный кислород [3-4]. Супероксиддисмутаза имеет три основные изоформы: цитозольная супероксиддисмутаза I, митохондриальная супероксиддисмутаза II и внеклеточная супероксиддисмутаза III [4].

Супероксид, образующийся в больших количествах в результате воспалительного процесса или действия каких-либо факторов, *in vitro* быстро диспропорционирует до перекиси водорода и вступает с ним в катализируемую ионами железа реакцию с образованием гидроксильного радикала. Однако *in vivo* практически со всем железом связываются белки организма-хозяина. Одним из таких белков является лактоферрин, он выступает в этом отношении ингибитором и препятствует образованию свободных гидроксильных радикалов [5].

Ещё одним важным звеном антиоксидантной защиты является медьсодержащий белок – церулоплазмин (ферроксидаза), который является основным переносчиком меди в плазме крови человека и антиоксидантом, который в основном вырабатывается в печени с последующим выходом в кровь. Подобно супероксиддисмутазе церулоплазмин принимает участие в реакции дисмутации. Однако, в отличие от первой, защищающей внутриклеточные структуры, он функционирует и нейтрализует кислородно-активные частицы в крови, предотвращая перекисное окисление липидов клеточных мембран [5].

Принимая вышеописанное во внимание, **целью данного исследования** является изучение зависимой от уровня окислительного стресса активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы в гомогенате печени и гемолизате крови крыс и церулоплазмينا в сыворотке крови крыс в рамках модели экспериментального метаболического синдрома на фоне систематического введения лактоферрина.

В соответствии с целью исследования, были поставлены следующие **задачи**:

1. Создание экспериментальной модели метаболического синдрома у крыс.
2. Получение гемолизата эритроцитов и гомогената печени экспериментальных животных.
3. Определение содержания гемоглобина в гемолизате эритроцитов и общего белка в гомогенате печени экспериментальных животных.
4. Определение активности супероксиддисмутазы в гемолизате эритроцитов и гомогенате печени экспериментальных животных.
5. Определение содержания церулоплазмينا в сыворотке крови экспериментальных животных.
6. Проведение статистической обработки полученных результатов.

