МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

"ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ"

Факультет физико-математических и естественных наук

Кафедра "Общая биология и биохимия"

Направление подготовки 06.03.01 Биология

Профиль Биохимия

БАКАЛАВРСКАЯ РАБОТА

на тему:

«ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ АНТИОКСИДАНТОВ НА РЕАКЦИЮ АУТООКИСЛЕНИЯ АДРЕНАЛИНА»

Студент _____ Красилова Алёна Вячеславовна

Научный руководитель _____ Безручко Н.В.

Нормоконтролёр _____ Кручинина А.Д.

Работа допущена к защите (протокол заседания кафедры от 13.06.17 №14)

Заведующий кафедрой _____ Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично (протокол заседания ГЭК от 19.06.17 № 3)

Секретарь ГЭК _____ Кручинина А.Д.

Пенза, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ 3
ВВЕДЕНИЕ 4
ГЛАВА 1. Обзор литературы 6
1.1 Адреналин – индуцируемая глаукома (АИГ) 6
1.2 Маркерные тесты окислительных процессов и антиоксидантной защиты 10
1.2.1 Антиоксиданты природного происхождения 12
1.2.2 Антиоксиданты синтетического происхождения 15
1.3 Применение МБС адреналин/адренохром 16
1.3.1 Применение МБС для изучения процессов в организме 16
1.3.2Исследования, проводимые на МБС, изучающие влияние веществ на качество жизни 19
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ 22
2.1 Модель адреналин/адренохром как экспериментальная МБС 22
2.2 Метод аутоокисления адреналина в адренохром 23
2.3 Исследуемые антиоксиданты 24
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ 26
ВЫВОДЫ 41
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ 42

Список сокращений

АА – антиоксидантная активность

АИГ – адреналин –индуцированная глаукома

АО – антиоксидант

АФК – активные формы кислорода

БАС – биологические активные соединения

ВГД – внутриглазное давление

ВГЖ – внутриглазная жидкость

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ПОУГ – первичная открытоугольная глаукома

СОД – супероксиддисмутаза

ЦНС – центральная нервная система

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Окислительно – восстановительные реакции являются основой всех метаболических процессов организма. При этом свободнорадикальное окисление оказывает существенное влияние. Свободные радикалы - это молекулы или структурные фрагменты молекул, которые имеют в одном из атомов кислорода на внешней орбитали неспаренный электрон, для устойчивого состояния им необходимо отнять недостающий электрон от других молекул. Биологическая роль свободных радикалов велика. Они активно принимают участие в модуляции специфической активности ряда мембранных ферментов, синтезе простогландинов, лейкотриенов, метаболизме катехоламинов и стероидных гормонов. [27]

При нарушении баланса между биохимическими механизмами оксигеназной утилизации кислорода, механизмами защиты от вредных воздействий его реакционных метаболитов возникает окислительный стресс. Для его устранения используют биологически активные соединения, обладающие антиоксидантной активностью. Антиоксиданты – это вещества, которые, существенно задерживают или ингибируют окисление субстрата, присутствуя при этом в небольшом количестве. В результате механизма прерывания реакции окисления образуются малоактивные радикалы, которые легко выводятся из организма. [29]

Изучение процессов окисления и влияние тех или иных антиоксидантов можно осуществить при помощи моделирования на биологических системах. Моделирование - это создание биологических систем, обладающих конкретными свойствами, которые воспроизводят биохимические процессы в организме. Их проектирование позволяет визуализировать различные клеточные процессы, изучить механизмы протекания метаболических реакций в живом организме, в данном

случае исследовать способность антиоксидантов различного происхождения на окислительный процесс.

Модель адреналин – адренохром является одной из таких МБС, которая позволяет моделировать хиноидное окисление адреналина в организме. Данный процесс основан на самоинициации процессов внутримолекулярных перестроек молекулы адреналина, происходит депротонизация, циклизация и образование адренохрома – соединение хиноидной природы. Наряду с этим происходит одноэлектронное восстановление кислорода. Модель адреналин – адренохром позволяет проводить эксперименты по окислению адреналина in vitro, то есть не на живых организмах. [35]

Цель работы: изучить влияние различных антиоксидантов на реакцию аутоокисления адреналина.

Задачи:

1. исследовать влияние антиоксидантов на процесс аутоокисления на примере модельной биологической системы адреналин - адренохром.
2. выявить, какой из заявленных препаратов обладает высокой антиоксидантной активностью.
3. выявить, какой из трех видов окисления способствует проявлению высокого показателя антиоксидантной активности.

Бакалаврская работа написана на 50 листах, содержит 7 рисунков, 4 таблицы и список литературы на русском и английском языках из 63 источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1Адреналин - индуцированная глаукома

Глаукома – это заболевание, которое часто связано с повышением внутриглазного давления (ВГД), изменением радиуса поля зрения и поражения зрительного нерва. Причины возникновения заболевания могут быть различны. Это, например, ВГД, стрессовые ситуации, пожилой возраст, прогрессирование на фоне других хронических заболеваний. Понятие глаукомы включает в себя прогрессирующую потерю ганглиозных клеток с характерным изменением диска зрительного нерва. Так как это заболевание связано со зрительным нервом, точнее, с его дегенерацией, то нейроэндокринная регуляция играет важную роль при развитии глаукомы. Ранее были предприняты попытки определить участие таких гормонов, как антидиуретический, половые, гормоны паращитовидных желез. При этом было предположено, что адреналиновый стресс может привести к регуляторно – метаболическим изменениям, которые участвуют в формировании патологии. [21,14]

Сейчас считается доказанным, что именно повреждения митохондрий, находящихся в аксонах ганглиозных клеток сетчатки, являются причиной развития глаукомного развития на раннем этапе. Ганглиозные клетки более энергозатратны, в них содержится большое количество митохондрий. Они принимают участие не только в апоптозе клеток или их старении, но и в дегенеративных процессах нейронов. Глаукомная оптическая нейропатия возникает вследствие повреждения активными формами кислорода ДНК митохондрий, так как они являются менее защищенными от окислительного стресса.

Происходит проникновение ионов кальция внутрь клетки, осуществляется активация энзимов и запускается апоптоз. Возникновение такого рода мутаций часто приходит с возрастом больного. Поэтому дисфункция митохондрий рассматривается первый признак нейрональных нарушений и возникновения прогрессированной глаукомы. [39,15,53]

Эти данные были получены в ходе изучения патологического процесса у экспериментальных животных. При моделировании заболевания наблюдалось увеличение митохондрий в размерах, просветление матрикса и вакуолей, при этом кристы были подвержены редуцированию, укорочены в раз мерах, их расположение было ближе к стенкам мембраны. При этом у нейронов было обнаружено отслоение миелиновой оболочки. Изменение структуры митохондрий может приводить к серьезным функциональным последствиям. Это может быть изменение полупроницаемости мембран, мембранного потенциала вследствие увеличения притока ионов кальция, нарушения окислительного процесса и образование активных форм кислорода. Все эти причины приводят к апоптозу клетки – самоуничтожению для предотвращения мутации ДНК и неправильной работы всей клетки в целом. Апоптоз - это ключевая причина возникновения такого заболевания, как открытоугольная глаукома. [26,39,51]

Взаимосвязь между патологиями головного мозга и органа зрения представляет собой особый интерес. Если принять во внимание , что зрительный нерв и центральная нервная система представляют единую систему, то можно предположить, что митохондриальная дисфункция может усугублять работу не только ЦНС, но и глазного яблока. Поэтому изучение митохондрий сетчатки глаза, зрительного нерва, а также коры головного мозга является актуальным. [39,49]

Исходя из вышеперечисленного, можно предположить, что:

1) апоптоз в клетках ганглиев при хронической глаукоме – труднорегистрируемое явление, даже при рассмотрении экспериментальной модели.

2) вероятно, что массовая гибель клеток имеет важное значение при глаукоме;

3) причиной гибели клеток может являться избыточное количество активных форм кислорода, изменение потенциала мембраны, что может привести к нарушению транспорта нейропептидов от структур ЦНС. [1]

Следует обратить внимание на гуморальный иммунитет при первичной открытоугольной глаукоме, так как было выявлено заметное колебание содержания иммуноглобулинов M, G, E и A в период заболевания. При их исследовании было обнаружено повышение их уровня по сравнению со здоровыми лицами и у пациентов групп риска развития глаукомы. Согласно результатам, показатели Ig M увеличены вдвое, а Ig G и Ig A – в 1,5 раза. Это свидетельствует о том, что в ранний период развития глаукомного процесса активируется гуморальный ответ организма. [38,22,23]

Из этого можно сделать вывод, что глаукома – это хроническое заболевание, которое нуждается в контроле, длительном лечении, которое заключается в понижении ВГД, и, как следствие, стабилизации протекания патологии. [8]

Чтобы проанализировать последние результаты протекания данного заболевания, контролировать процессы в организме человека, нужно создать особые условия моделирования заболевания, обеспечить сходство модели оригиналу. Принцип сходства модели можно осуществить, используя следующие критерии подобия:

- согласно первому критерию, модельная система должна отражать единство двигательных, эндокринных, нейрорегуляторных и метаболических функций организма человека;

- второй критерий отражает сходство морфологической и функциональной характеристик модельной системы и органов человека;
- третий критерий должен обеспечивать максимальное сходство по реагированию на исследуемое воздействие;
- четвертый критерий должен отражать корреляцию параметров оценки, которые оцениваются у экспериментальных животных;
- Пятый критерий отражает начальные и конечные условия прохождения эксперимента, которые должны быть максимально тождественны с биологическими константами. [6]

Для осуществления эксперимента применяется экспериментальная модель адреналин - индуцированная глаукома, наиболее популярна модель у кроликов по схеме Е.М. Липовецкой. Данная модель экспериментально воспроизводит первичную открытоугольную глаукому (ПОУГ). Согласно данной схеме, кроликам для моделирования высокого ВГД вводили длительное время раствор адреналина гидрохлорида, дозировка составляла 0,5 мл 0,1% раствора адреналина. При такой дозировке выживала только половина экспериментальных животных, а у оставшихся в живых наблюдалось повышение ВГД. При дальнейшем усовершенствовании модели удалось достичь нужной дозировки адреналина гидрохлорида, которая вызывала повышение ВГД, но при этом снижала на 10-15 % смертность животных при длительном его введении. Для кроликов это составило 25-30 мкг/кг массы животного на 40 инъекций. [1,24,28]

Так, можно выделить основные причины выбора модели АИГ у кроликов:

- Во-первых, в эксперименте можно руководствоваться общим подходом к биологическим исследованиям, в результате которого будут формироваться общий комплекс симптомов глаукомного процесса (при повышении ВГД происходит изменение трабекулы угла

передней камеры, что приводит к атрофии зрительного нерва из-за гибели ганглиозных клеток сетчатки глаза;

- Во-вторых, кролики считаются адекватной моделью, так как эволюционное строение головного мозга сходно с приматами;
- В-третьих, этот метод доступен для воспроизведения. Можно проводить полное офтальмологическое обследование, которое поможет исследовать морфологическое строение глаза, его изменение при протекании глаукомного процесса, следить за состоянием экспериментальных животных, не требуя при этом специального дорогостоящего оборудования. [3,20]

Модель АИГ позволяет сделать вывод, что данная модель способна к адекватному отображению глаукомного процесса, позволяет отслеживать морфологические изменения и патологические механизмы, которые наблюдаются у больных, так как она воспроизводит нейродегенеративные процессы глаза. Модель адреналин - индуцированная глаукома дает возможность изучать патологический процесс не только на организменном, но и на клеточно- молекулярном уровне, позволяет исследовать эффективность и безопасность медикаментозные методы лечения. При этом исследования именно на модели АИГ у кроликов могут быть экстраполированы на первичную открытоугольную глаукому человека. [3]

1.2 Маркерные тесты оценки окислительных процессов и антиоксидантной защиты

В последнее десятилетие свободные радикалы и их роль в развитии заболеваний стали предметом многих исследований. Доказано, что они участвуют в развитии широкого спектра заболеваний. Проблема химической регуляции окислительного стресса и поиск БАС, обладающих

актиоксидантной активностью, находятся в центре внимания многих исследователей.

Антиоксидант – это любое вещество, которое, присутствуя в низких по сравнению с окисляемым субстратом концентрациях, существенно задерживает или ингибирует его окисление. По химической природе антиоксиданты представляют собой широкий класс химических соединений. Структурное сходство является основным параметром классификации. Антиоксиданты классифицируют также в зависимости от растворимости, например, жиро- и водорастворимые. Систематики могут быть построены на делении по молекулярной массе, способности проникать через биологические барьеры, по механизму действия, способности к катализу и т.п. [4]

Разработка эффективных мер защиты от агрессивного воздействия O2 стала основой для выделения новой группы фармакологических веществ — антиоксидантов.

Следует отметить, что концепция использования в медицине синтетических антиоксидантов, как, впрочем, и большинства лекарств - ксенобиотиков, уже давно подвергается обоснованной критике, так как их применение не всегда обеспечивает необходимый эффект, а иногда приводит к тяжелым последствиям для здоровья человека. В связи с этим остро актуализируется вопрос о синтезе безопасных и высокоактивных металлсодержащих антиоксидантов. [5]

АО замедляют процесс окисления путем взаимодействия с кислородом воздуха, прерывая реакцию окисления или разрушая уже образовавшиеся перекиси. Основываясь на данном факте, для увеличения стойкости продуктов питания, содержащие жиры и витамины, стали использовать природные и искусственные (синтетические) антиоксиданты. [37]

По механизму действия антиоксиданты делятся на препараты прямого и непрямого действия.

1. АО прямого действия подразделяют на:

а)антирадикальные (токоферолы, экранированные фенолы);

б)разрушающие перекиси (в основном тиоловые соединения);

в) связывающие катализаторы – ионы переменной валентности;

г) тушители – вещества, инактивирующие активные формы кислорода (каротиноиды).

2. К АО непрямого действия относят вещества, участвующие в синтезе в живом организме прямых биоантиоксидантов или АО ферментов. Например, глутаминовая кислота используется в синтезе глутатиона, селен необходим для образования селеносодержащей глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9). [27,54]

1.2.1 Антиоксиданты природного происхождения

Среди природных антиоксидантов в настоящее время насчитывается не менее двух десятков различных соединений, начиная с «классических» α-токоферола (витамина Е) и аскорбиновой кислоты (витамина С). Большинство из них — замещенные фенолы и/или полифенольные соединения, которые благодаря гидроксильным группам способны ингибировать цепные реакции окисления в модельных системах (in vitro), например, реакцию аутоокисления линоленовой кислоты. К АО можно отнести так же убихинон, глутатион и флавоноиды, мелатонин и другие гормоны человека и животных, даже аминокислоты и пептиды. [11,50,60]

Одной из самых перспективных групп биологически активных веществ, обладающих антиоксидантной активностью, являются растительные фенольные соединения. Их антиоксидантная активность объясняется взаимодействием с высокоактивными свободными радикалами, возникающими при аутоксидации, а также образованием устойчивых комплексов с тяжелыми металлами – катализаторами окисления. [25]

Перспективным является использование комплекса средств, содержащего в своем составе помимо натуральных биофлавоноидов и другие естественные АО. К ним относят глутатион, селен, входящие в состав активного центра глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) . Такой комплексный состав с включенными АО, действующий как в водной, так и липидной фазах, и влияющий на процессы липопероксидации и радикалообразования, является наиболее сбалансированным и перспективным в плане клинического применения. Это обусловливает повышенный интерес к поиску профилактических и лечебных антиоксидантных средств природного происхождения, основным преимуществом которых является их многостороннее и щадящее воздействие на организм, отсутствие или незначительность проявления побочных эффектов. [40]

Одной из самых перспективных групп БАС, обладающей антиоксидантной активностью, являются растительные фенольные соединения, среди которых ведущее место занимают полифенолы. Поэтому одним из важных показателей качества растительного сырья является их антиоксидантная активность. С целью выявления состояния антиоксидантной защиты организма в условиях патологического процесса исследуется активность супероксидисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.1), важнейшего фермента этой системы, катализирующего превращение высокореакционного супероксид аниона в относительно менее активную перекись водорода и молекулярный кислород. Один из широко используемых подходов для определения активности СОД основан на способности фермента ингибировать супероксидрадикалы в реакции аутоокисления адреналина в щелочной среде. На основе этого подхода разработан метод измерения антиоксидантной активности различных видов лекарственного растительного сырья и препаратов на их основе. [29,52]

Токоферол (витамин Е) является важным природным антиоксидантом, который обеспечивает структурную целостность мембран. На мембранном уровне токоферолы стабилизируют липидный слой, обеспечивая оптимальные условия для функционирования рецепторов мембран, улучшая мембранный транспорт и ферментные структуры. Причиной проявления оксидантных свойств считается наличие в его молекуле длинной цепи с ненасыщенными двойными связями, именно из-за нестабильных связей он служит отличным субстратом для атаки свободными радикалами. Функции токоферола тесно связаны с функциями такого антиоксиданта как селен и других органических соединений. [16]

Ретинол (витамин А) биологически активное вещество, реализующее свое действие в липидном слое клеточных мембран. Есть данные, что ретинол благоприятно воздействует на белковый и углеводный обмены клеточных мембран у кардиологических больных. Это связано со способностью блокировать активные формы кислорода. Профилактические дозы витамина А способствуют снижению риска развития ишемической болезни сердца и сердечно - сосудистых заболеваний в целом. [7]

Аскорбиновая кислота (витамин С) - главный водорастворимый антиоксидант, который защищает мозг, мышечную ткань от воздействия свободных радикалов и восстанавливает окисленный витамин Е в его антиоксидантную форму. Его роль заключается в транспорте электронов в окислительно – восстановительных процессах, являясь при этом восстановителем, переходит в форму дегидроаскорбиновой кислоты. Посредством данного механизма витамин С участвует в предотвращении окисления липидных структур – фосфолипидов клеточных мембран и ЛПНП. [32]

1.2.2 Антиоксиданты синтетического происхождения

К синтетическим антиоксидантам относят лекарственные препараты, пищевые добавки и биологические активные соединения.

Этомерзол (5-этокси-2-этилтиобензимидазола гидрохлорид) является производным бемитила, применяемого в качестве лечебно-реабилитационного средства при различной патологии, сопровождающейся нарушениями энергетического и пластического обмена. При гипоксических состояниях в условиях взаимообусловленных энергодефицита и гиперактивации процессов ПОЛ, обладающие энергостабилизйрующими свойствами производные бензимидазола оказывают антиоксидантное действие, которое может быть результатом нормализации энергетического обмена клетки. Действительно, этомерзол способен ограничивать накопление продуктов ПОЛ в мозге крыс при его острой неполной ишемии, не проявляя при этом in vitro антирадикальной активности в реакции со стабильным свободным радикалом α-дифенил-α-пикрилгидразилом. В последнее время показано, что предшественник этомерзола – бемитил обладает свойствами истинного антиоксиданта, эффективно корригируя процесс ПОЛ как in vivo при гипоксии различного генеза, так и in vitro при моделировании железоиндуцированного ПОЛ . Данные об антиоксидантных свойствах этомерзол носят фрагментарный характер, что диктует необходимость исследования влияния этомерзола in vivo на свободнорадикальные процессы в органах при гипоксических состояниях наряду с проявляемыми эффектами в модельных система in vitro. [17]

Экдистероиды – группа липофильных полигидроксилированных стероидов, участвующих в жизнедеятельности практически всех организмов. Являясь у насекомых гормонами линьки, у человека они регулируют множественные функции и оказывают разнообразные эффекты: анаболический, ранозаживляющий, ноотропный, гипогликемический, иммуномодулирующий и др.. Их антиоксидантные свойства, как и механизм действия, изучены недостаточно. Одним из

представителей экдистероидов является фитоэкдистерон, обладающий основными эффектами, присущими данному классу соединений, и широко распространенный в растениях центральной полосы России. [46]

1.3 Применение МБС адреналин/адренохром

1.3.1 Применение МБС для изучения процессов в организме

Влияние адреналина распространяется как на системные, так и на внутриклеточные процессы, которые осуществляются с помощью адренорецепторов, их гетерогенность распределения определяет в различных органах структуру стресс - реакции и региональные перераспределения кровотока в норме и в патологии. Эти свойства адреналина реализуются через систему вторичных посредников, которые препятствуют прямому взаимодействию с внутриклеточными системами. Это имеет важное регуляторное значение.

Так, с учетом наличия при неферментативном окислении адреналина электронно – возбужденных состояний, которые сопровождаются фотохимическими и фотофизическими процессами, обладающими способностью к генерации электромагнитного излучения, была выдвинута гипотеза о бесконтактном (дистантном) влиянии окисляющего адреналина на гемоглобин крови человека, который дополняет эффекты прямого взаимодействия адреналина.

Открытие такого вида макромолекулярного взаимодействия на примере пары адреналин – гемоглобин позволяет определить важную роль участия электромагнитного излучения в регуляции метаболических процессов за счет окисления адреналина. [13]

Стоит учесть возрастные изменения организма, его физиолого – биохимические показатели, так как с возрастом происходит рассогласование работы сопряженных антиоксидантных ферментов, происходит изменение уровня антиоксиданта неферментативной

природы – витамина Е. Возрастная динамика отдельных показателей крови – гемоглобина и концентрации эритроцитов - хорошо изучена, чего нельзя сказать о возрастных изменениях периферического звена эритронов, особенно на этапе инволюции человека. Суммарные показатели периферического звена эритронов изменяются иначе, чем индивидуальные показатели эритроцитов, поэтому важно изучать оба показателя в эксперименте и клинике. В процессе старения и развития заболеваний центральное место занимает окислительное повреждение липидов, белков и нуклеиновых кислот клеток. Для изучения морфологических и физиологических нарушений эритроцитов на поздних этапах онтогенеза возможна коррекция данного эффекта при помощи антиоксидантов разной природы. Изучение данного эффекта можно осуществить при помощи данной модельной системы. [12,42]

При помощи реакции аутоокисления адреналина с использованием полярографического метода можно выявлять антиоксидантные свойства различных препаратов и проводить скрининг веществ, которые претендуют на подобную роль. Данный эффект достигается не только за счет образования адренохрома и АФК (супероксид аниона и пероксида), но и исчерпания кислорода, что приводит к уменьшению его содержвния в среде. Супеоксиддегенерирующая и супероксиддетектирующая реакция аутоокисления адреналина может использоваться в качестве модельной тест – системы. [34]

Изучена зависимость между активностью ферментов супероксиддисмутазы (СОД, КФ 1.15.1.1) и каталазы (КФ 1.11.1.6) с клиническими проявлениями алкоголя. Было показано, что при длительном потреблении алкоголя происходят существенные изменения в антиокислительном статусе, отражает проведение терапии против алкогольной зависимости. Поэтому для повышения эффективности

лечебных мероприятий следует првести целенаправленную коррекцию антиокислительного статуса. [12,57]

Ишемические и травматические повреждения головного мозга – глобальная проблема здравоохранения, так как распространение сосудистых заболеваний приводит к нарушению мозгового кровообращения. Реакции глутамат – кальциевого каскада – основа возникновения ишемического нарушения головного мозга, в результате чего синтезируется избытончое количество оксида азота, активизируются клеточные ферменты, происходит накопление цитотоксических веществ. Эти деструктивные изменения приводят к апоптозу, происходит протекание окислительных процессов, возрастает уровень свободных радикалов. Образование АФК (супероксидрадикала, гидроксид-радикала, NO-радикала при разобщении окислительного фосфорилирования и дыхательной цепи) – одна из стадий развития окислительного стресса в условиях ишемии головного мозга. В результате атаки активными формами кислорода клеточной мембраны нейрона происходит их модификация и деструкция. При этом АФК усиливают экспрессию противовоспалительных цитокинов при ишемии, что приводит к активации факторов транскрипции белка, посредством косвенных механизмов еще больше усиливают синтез АФК. Современные препараты ноотропного характера улучшают умственную деятельность, память, но не снижают неврологический дефицит, требуют длительного курса применения, имеют побочные эффекты. В связи с этим требуется создание препаратов, которые могли бы активно влиять на патогенетические звенья и тормозить образование свободных радикалов, обладать меньшим токсическим эффектом. Подобные эксперименты возможны на модельной биологической системе адреналин / адренохром, основанной на реакции аутоокисления. [47,61,48]

1.3.2 Исследования, проводимые на МБС, изучающие влияние веществ на качество жизни

Потребление воды, соответствующей гигиеническим нормативам – один из важных показателей качества жизни. Распространенными загрязнителями воды являются соединения хрома и бензола, их источником служат предприятия газодобывающей, газо- и нефтеперерабатывающей промышленности. Загрязнение воды тяжелыми металлами связана с их биологической активностью и может использоваться в качестве индикатора экологической обстановки. Их токсичность в живом организме зависит от многих факторов. К ним относят температуру, так как при ее повышении увеличивается их поглощение и токсичность, а соленость снижает ее. Данные соединения оказывают отрицательное воздействие на иммунную систему, что обусловлено влиянием на антиоксидантный статус организма. Поэтому изучение влияния соединений хрома и бензола на антиокислительные ферменты эритроцитов крови в условиях модельного эксперимента считается актуальным и эффективным. [18,19,36]

Окислительный стресс – это неспецифический ответ организма на воздействие повреждающих факторов организма, которые могут оказать влияние на гомеостаз. При этом стресс может вызвать возможность редокс- активных металлов генерировать радикалы в биологических системах, что способствует окислительной модификации ДНК, происходит усиление процессов липопероксидации за счет систем нейро – гуморальной регуляции. Происходит возникновение токсического воздействия металлов, не обладающих окислительно – восстановительной активностью за счет таких механизмов как связывание тиольных групп пептидов и белков, в том числе глутатиона, ведет к активации свободно радикальных процессов. Соответственно, изменение редокс – баланса запускает ряд защитно - приспособительных реакций. [10,43,55]

В окружающей среде тоже есть вещества, которые способны активировать процесс свободно - радикального окисления. Пестициды как средство защиты растений считаются одним из таких веществ. Например, хлорфеноксигербициды, к которым относятся производные 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты. Диметиламмониевая соль способна трансформироваться до токсичных метаболитов, что приводит к нарушению функционирования клеточных мембран, снижению антиоксидантной активности. При участии в метаболизме хлорсодержащих пестицидов также наблюдается выработка супероксид – анион – радикалов, оксид азота, содержащийся в пестицидах, участвует в образовании наиболее активного гидроксильного радикала по реакции Фентона. Редокс – сигнализации, индуцируемые пестицидами, изменяют антиоксиантную систему накоплением активных форм кислорода, что сопровождается окислительным стрессом. Контроль содержания поллютантов в окружающей среде, основанный на предельно – допустимых концентрациях, исключает попадание токсических доз в организм человека. Однако низкий уровень токсичности не позволяет допускать полное отсутствие каких-либо отрицательных воздействий на физиологические и метаболические процессы при поступлении в организм. Возникновение окислительного стресса при попадании гербицидов в токсических дозах – один из важных аспектов изучения влияния окислителей на антиоксидантную активность организма. [9,45,58]

Тяжелые металлы - причины окислительного стресса в последние годы. Это связано с возбуждением атомов кислорода или окислительно – восстановительными реакциями в хлоропластах, митохондриях, плазмалемме растений. Продукция активных форм кислорода, индуцированная тяжелыми металлами, происходит вследствие переноса электронов в реакциях, опосредованных ионами переходных металлов. В результате происходит нарушение метаболических процессов,

инактивации антиоксидантных ферментов, подавлении неферментативных антиоксидантов. Хром, являющийся тяжелым металлом, способен устойчиво циркулировать в окружающей среде, является биодоступным. Хром способен вызывать даже в низких дозах токсический эффект. Согласно электронной конфигурации железо способно осуществлять электронные переносы. Данный элемент считается основным компонентом метаболизма и образования свободных радикалов в биологических системах. В организме на подобного рода воздействия реагирует в первую очередь иммунная система, которая отвечает на любой контакт с химическими веществами на ранних этапах. [31,44]

Используя модельную биологическую систему адреналин – адренохром можно изучать не только оценку антиоксидантной активности организма человека, моделирование патологических процессов для изучения окислительного статуса, но и исследовать растения на наличие токсических веществ, оценивать загрязнение водных ресурсов. Изучение растительного сырья в качестве источника природных антиоксидантов (витаминов, флавоноидов), их антиоксидантная активность – все это возможно осуществить при использовании в экспериментальных опытах данной модели. [30]

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Модель адреналин - адренохром как экспериментальная МБС

Модель аутоокисления адреналина в щелочном карбонатном буфере является удачной моделью для изучения антиоксидантной активности веществ различного происхождения, как природного, так и синтетического.

Один из путей превращения адреналина, гормона-медиатора симпато - адреналовой системы организма – хиноидное окисление. Специфические ферменты хиноидного окисления адреналина не выявлены, но образующиеся продукты реакции существуют, и известны ферменты, их утилизирующие. Хиноидное окисление адреналина относят к аномальному метаболизму катехоламинов, с которым в настоящее время связывают его нейро- и кардиотоксическое действие. Причина токсичности, как предполагается, обусловлена не только накоплением продуктов окисления катехоламинов аминохромов, но и образующимися в этом процессе активными формами кислорода (АФК), а именно, как считается, супероксид анионами (O_2^-) [35,59]

Моделью хиноидного окисления адреналина является реакция аутоокисления адреналина в щелочном карбонатном буфере для определения активности фермента супероксиддисмутазы (СОД; КФ 1.15.1.1). СОД, перехватывая кислород, тормозит накопление адренохрома. Процесс аутоокисления адреналина происходит по типу цепной реакции и начинается после внесении адреналина в щелочной раствор. При низкой концентрации H^+ самоинициируется процесс внутримолекулярных перестроек молекулы адреналина: происходит депротонизация, последующая циклизация и образование соединения хиноидной природы – адренохрома. В буферный раствор поступают высвобождающиеся электроны, которые получает растворённый в среде инкубации кислород.

Происходит одноэлектронное восстановление кислорода и образуются супероксид анионы. [35,56,33]

Следует отметить, что супероксидегенерирующую и супероксиддегенерирующую реакцию аутоокисления адреналина можно использовать преимущественно как модельную тест – систему. В сложной биологической системе, содержащей клеточные органеллы (например, микросомальная или митохондриальная фракции) использовать адреналин для регистрации АФК не рекомендуется, поскольку так и адреналин как и адренохром могут метаболизироваться в этих органеллах соответствующими ферментами и интерпретация полученных результатов затруднена. Кроме того, адренохром обладает высокой биологической активностью, механизм которой может быть связан с полифункциональностью процесса превращения адреналина в адренохром. [34]

2.2 Метод аутоокисления адреналина в адренохром

Для ингибирования аутоокисления адреналина и предотвращения образования АФК к 4 мл 0,2 М натрий-карбонатного буфера, pH = 10, 65 (устанавливаемое добавлением к 0,2 М раствору Na_2CO_3 сухого реактива $NaHCO_3$), добавляют 0,2 мл 0,1 % (5,46 мМ) аптечного адреналина гидрохлорида, тщательно и быстро перемешивают, помещают в спектрофотометр СФ – 46 и определяют оптическую плотность через 30 секунд в течение 10 минут при длине волны 347 нм в кювете толщиной 10 мм на спектрофотометре СФ – 46 (D_1). Далее к 4 мл буфера (pH = 10, 65) добавляют 0,06 мл исследуемого экстракта и 0,2 мл 0,1 % адреналина гидрохлорида, перемешивают и измеряют оптическую плотность, как описано выше (D_2). Для учета влияния антиоксидантов на окислительные процессы в качестве контрольной пробы используют буферный раствор и адреналина гидрохлорид. Антиоксидантную активность (АА) исследуемых

веществ выражают в процентах ингибирования аутоокисления адреналина и вычисляют по формуле:

$$AA = \frac{(D_1 - D_2)}{D_1}, \% \ .$$

Величина АА более 10% свидетельствует о наличии АО активности. [29,41]

Обработка результатов исследования осуществляется с помощью стандартного набора компьютерного приложения Exel с применением критерия Стьюдента ($p < 0,05$).

2.3 Исследуемые антиоксиданты

Мелаксен. Препарат, применяемый при нарушениях временной адаптации, синтезирован из аминокислот растительного происхождения. Является синтетическим аналогом гормона эпифиза. Нормализует циркадные ритмы. Проявляет иммуностимулирующие и выраженные антиоксидантные свойства. Тормозит секрецию гонадотропинов и в меньшей степени - других гормонов аденогипофиза (кортикотропина, тиреотропина и соматотропина). Не вызывает привыкания и зависимости. Выпускается в форме таблеток по 3 мг, в упаковке 24 таблетки. [62]

Метилэтилпиридинол. Метилэтилпиридинол является ингибитором свободнорадикальных процессов и антиоксидантом. Оказывает влияние на систему свертывания крови: уменьшает вязкость крови, тормозит агрегацию тромбоцитов, снижает общий индекс коагуляции, удлиняет время свертывания крови. Стабилизирует мембраны клеток кровеносных сосудов и эритроцитов, повышает резистентность эритроцитов к механической травме и гемолизу. Уменьшает проницаемость сосудистой стенки, повышает содержание циклических нуклеотидов в тромбоцитах (циклический аденозинмонофосфат и циклический гуанозинмонофосфат),

обладает фибринолитической активностью, уменьшает степень риска развития кровоизлияний, способствует их рассасыванию. Обладает ретинопротекторными свойствами, защищает сетчатку глаза от повреждающего действия света высокой интенсивности, способствует рассасыванию внутриглазных кровоизлияний, улучшает микроциркуляцию в тканях глаза. Форма выпуска: в ампулах по 1 мл, в упаковке 10 ампул. [63]

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБССУЖДЕНИЕ

Полученные результаты изложены в таблицах 1-4 и проиллюстрированы на рисунках 1-4.

В таблице 1 представлены значения показателя антиоксидантной активности (АОА) в модельной биологической системе без введения в нее антиоксидантов.

Таблица 1.

Значения показателя антиоксидантной активности в модельной биологической системе без введения антиоксидантов.

Спонтанное окисление	Fe^{2+}-индуцированное окисление	Cu^{2+}-индуцированное окисление
0,022	0,131	0,045
0,021	0,127	0,048
0,019	0,129	0,046
0, 023	0,131	0,05
0,018	0,128	0,045
0,021	0,127	0,048
M		
0,020667	0,129	0,047
m		
0,001366	0,001788854	0,001154701

Анализируя таблицу 1, можно сделать вывод, что модельная биологическая система при Fe^{2+}- и Cu^{2+}- индуцированном окислении отвечает повышением антиоксидантной активности по сравнению со спонтанным окислением, а это значит, что данная модельная биологическая система может использоваться для постановки эксперимента.

В таблице 2-4 представлены значения антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему лекарственных препаратов мелаксен, метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях спонтанного, Fe^{2+}-индуцированного и Cu^{2+}- индуцированного свободно-радикального окисления.

Таблица 2.

Значения показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен, метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) условиях спонтанного свободно-радикального окисления.

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Спонтанное окисление
мелаксен	36,5
	37
	36
	37,5
	37
	38
M±*m*	37±1,154701
метилэтилпиридинол (10 мг)	45
	52
	52
	47,5
	50
	50,5
M±*m*	49,66667±4,041452

Таблица 1 (продолжение)

Антиоксиданты, вводимые в модельную	Спонтанное окисление

биологическую систему	
метилэтилпиридинол (5 мг)	27,5
	28
	27
	24,5
	30,5
	27
M±*m*	27,5±0,57735

Анализ таблицы свидетельствует о наличии у данных препаратов антиоксидантной активности, которая ярко выражена в случае с препаратом метилэтилпиридинол (10 мг). Его показатель антиоксидантной защиты практически в 2 раза выше, чем у этого же препарата с содержанием активного вещества 5 мг. Это еще раз доказывает адекватность модельной биологической системы адреналин - адренохром для применения ее в качестве модельной тест – системы и присутствие у препаратов соответсвующих антиоксидантных свойств, сопоставимых с заявленными концентрациями.

На рисунке 1 представлены в виде диаграммы показатели антиоксидантной активности, изложенные в таблице 2. Данная диаграмма наглядно иллюстрирует высокий по сравнению с другими препаратами показатель антиоксидантной активности в случае с препаратом метилэтилпиридинол (5 мг).

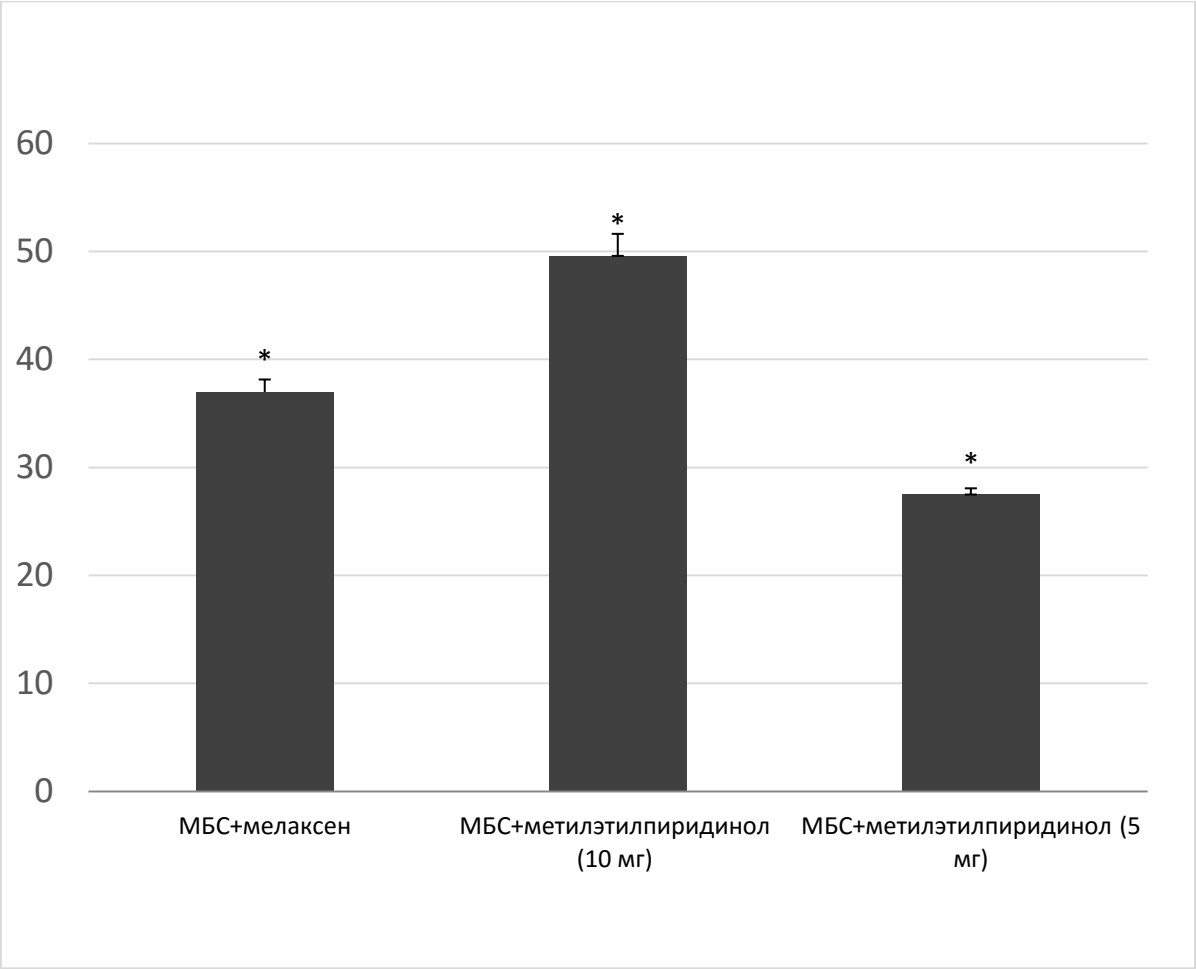

Рис. 1. Анализ показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен, метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях спонтанного окисления (M±m,n=6). Здесь: - p<0,05 относительно чистой МБС.*

Таблица 3.

Значения показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен, метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях Fe^{2+}-индуцированного свободно-радикального окисления.

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Fe^{2+}-индуцированное окисление
мелаксен	47,5
	44

Таблица 2 (продолжение)

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Fe^{2+}-индуцированное окисление
	44
	48,6
	55
	46,7
M±*m*	47,66667±6,350853
метилэтилпиридинол (10 мг)	54
	53
	55
	57
	53,2
	54
M±*m*	54,3333±1,36626
метилэтилпиридинол (5 мг)	30
	29
	31
	30,5
	29,5
	30
M±*m*	30±0,894427

Содержание таблицы 3 наглядно проиллюстрировано на рисунке 2, где проанализирована антиоксидантная активность вышеперечисленных препаратов в условиях Fe^{2+}-индуцированного свободно-радикального окисления. Можно сделать вывод, что и в данном случае наблюдается проявление антиоксидантной активности при Fe^{2+}-индуцированном окислении. Препарат метилэтилпиридинол (10 мг) проявляет выраженные антиоксидантные свойства.

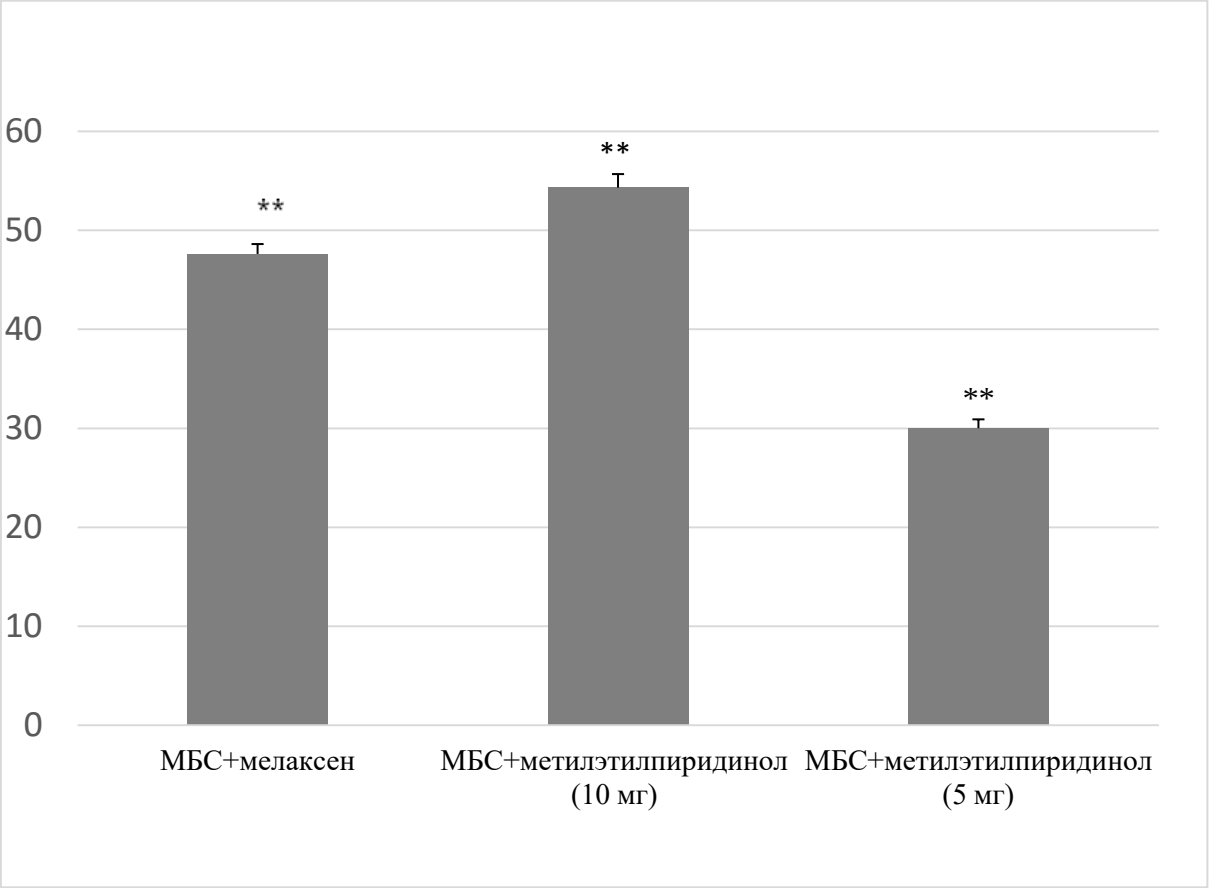

*Рис. 2. Анализ показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен (3 мг), метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях Fe^{2+}-индуцированного свободно-радикального окисления. (M±m,n=6). Здесь:** - p<0,05 относительно МБС+* Fe^{2+}.

В таблице 4 изложены показатели антиоксидантной активности при введении мелаксена (3 мг), метилэтилпиридинола (10 мг) и метилэтилпиридинола (5 мг) в модельную биологическую систему в случае Cu^{2+}- индуцированного свободно-радикального окисления. Значения таблицы 4 иллюстрирует рисунок 3.

Таблица 4.

Значения показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен,

метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях Cu^{2+}- индуцированного свободно-радикального окисления.

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Cu^{2+}-индуцированное окисление
мелаксен	40,3
	39
	39
	38,7
	40
	41
M±m	39,66667±1,154701
метилэтилпиридинол (10 мг)	52
	48
	60
	54
	53
	51
M±m	53±1,154701
метилэтилпиридинол (5 мг)	27,5
	27
	26
	25,5
	26,1
	27
M±m	26,5±0,57735

Обобщив результаты таблиц 3 и 4, можно сделать вывод, что в целом при введении в модельную биологическую систему антиоксидантов при Fe^{2+}-индуцированном и Cu^{2+}- индуцированном

свободно-радикальном окислении происходит увеличение показателя антиоксидантной активности препаратов по сравнению со спонтанным окислением (таблица 2).

Проанализировав рисунок 3, можно отметить, что в условиях Cu^{2+}-индуцированного окисления наблюдается такая же закономерность, что и в условиях со спонтанным и Fe^{2+}-индуцированным свободно-радикальным окислением.

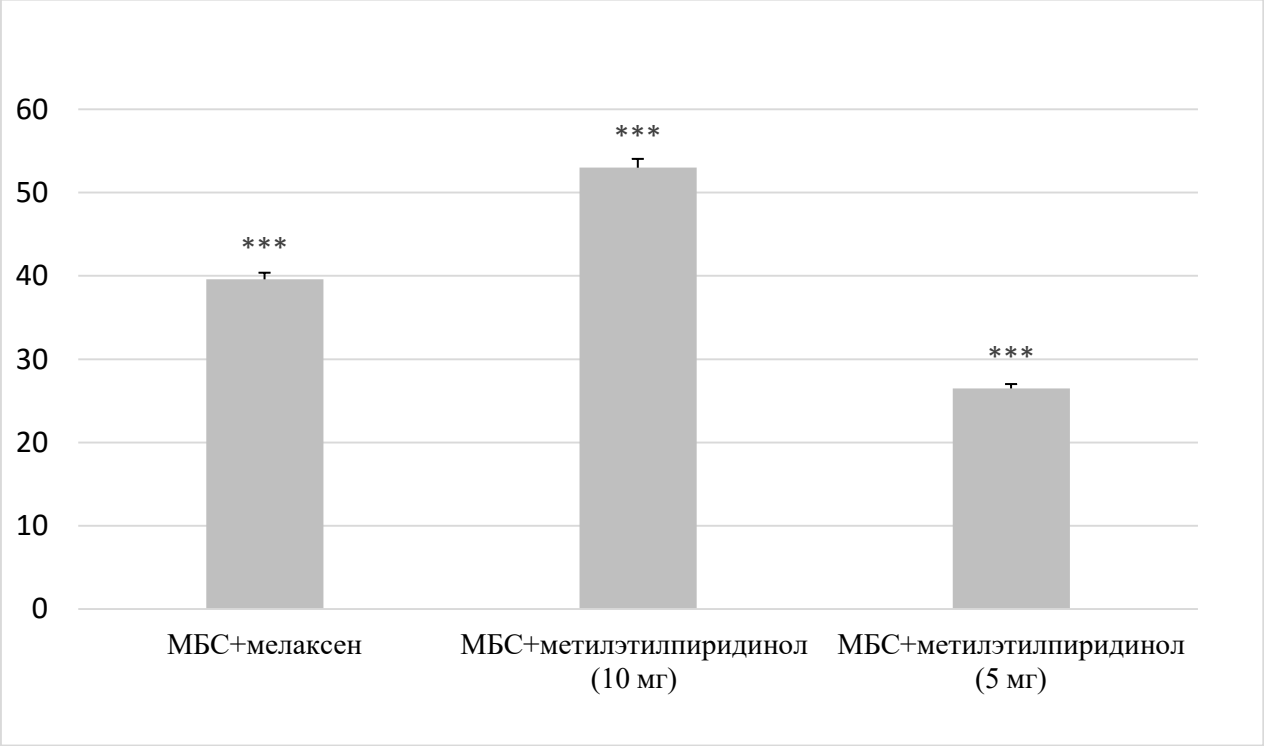

*Рис. 3. Анализ показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен (3 мг), метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях Cu^{2+}-индуцированного свободно-радикального окисления. (M±m,n=6). Здесь:*** - p<0,05 относительно МБС+* Cu^{2+}.

На рисунке 4 проиллюстрирован сравнительный анализ степени антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен (3 мг),

метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилэтилпиридинол (5 мг) в условиях спонтанного, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного окисления.

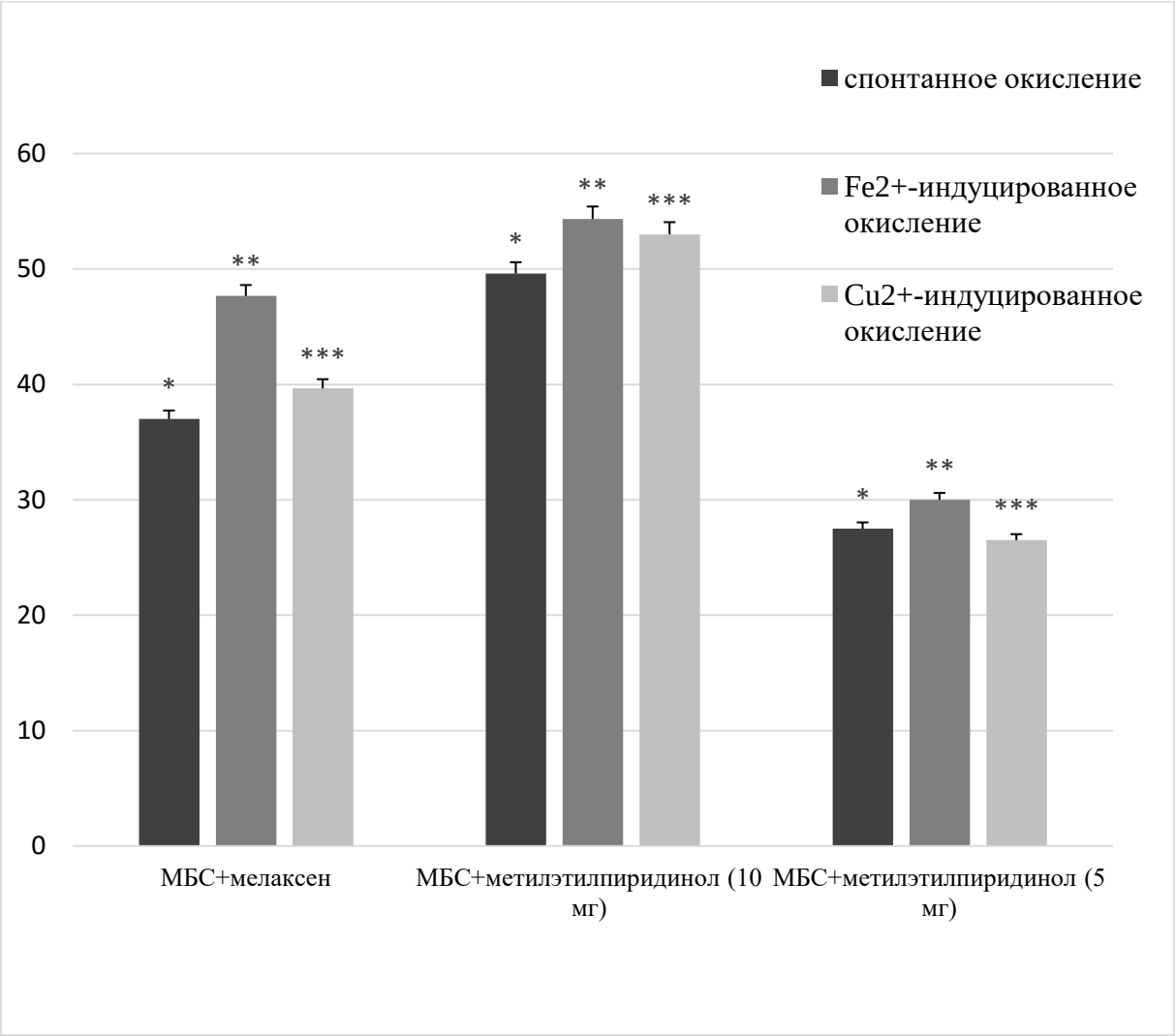

Рис. 4. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов мелаксен (3 мг), метилэтилпиридинол (10 мг) и метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях спонтанного, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного свободно-радикального окисления (M±m,n=6). Здесь:- p<0,05 относительно чистой МБС, **- p<0,05 относительно МБС+ Fe^{2+}, *** - p<0,05 относительно МБС+ Cu^{2+}.*

Полученные данные позволяют сделать вывод, что все исследуемые препараты обладают антиоксидантной активностью, которая в большей степени проявляется у препарата метилэтилпиридинол

(10 мг): во всех трех рассмотренных способах окисления значения антиоксидантной активности у данного препарата выше, чем у мелаксена. У препарата метилэтилпиридинол с содержанием активного вещества 5 мг антиоксидантная активность выражена меньше по сравнению с препаратом, содержание активного вещества которого 10 мг, что, соответственно, связано с разницей в концентрациях.

В рамках данного исследования возможны анализ и оценка всех трех условий окисления, которые можут продемонстрировать разницу между спонтанным , Fe^{2+}/ Cu^{2+}-индуцированным свободно-радикальным окислением. Подобный анализ поможет выявить, какой из трех условий окисления способствует проявлению высокого показателя антиоксидантной активности.

На рисунках 5-7 продемонстрированы 3 используемые в данной работе вида условий свободно-радикального окисления в рамках каждого препарата, вводимого в модельную биологическую систему.

Анализируя рисунок 5, стоит отметить, что степень выраженности антиоксидантной активности препарата мелаксен (3 мг) в условиях спонтанного окисления ниже, чем в условиях Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного свободно – радикального окисления. Это доказывает, что в присутствии Fe^{2+} и Cu^{2+} увеличивается показатель АО защиты препарата. Самый высокий показатель антиоксидантной активности наблюдается в условиях Fe^{2+}- индуцированного окисления, на втором месте в условиях Cu^{2+}-индуцированного окисления.

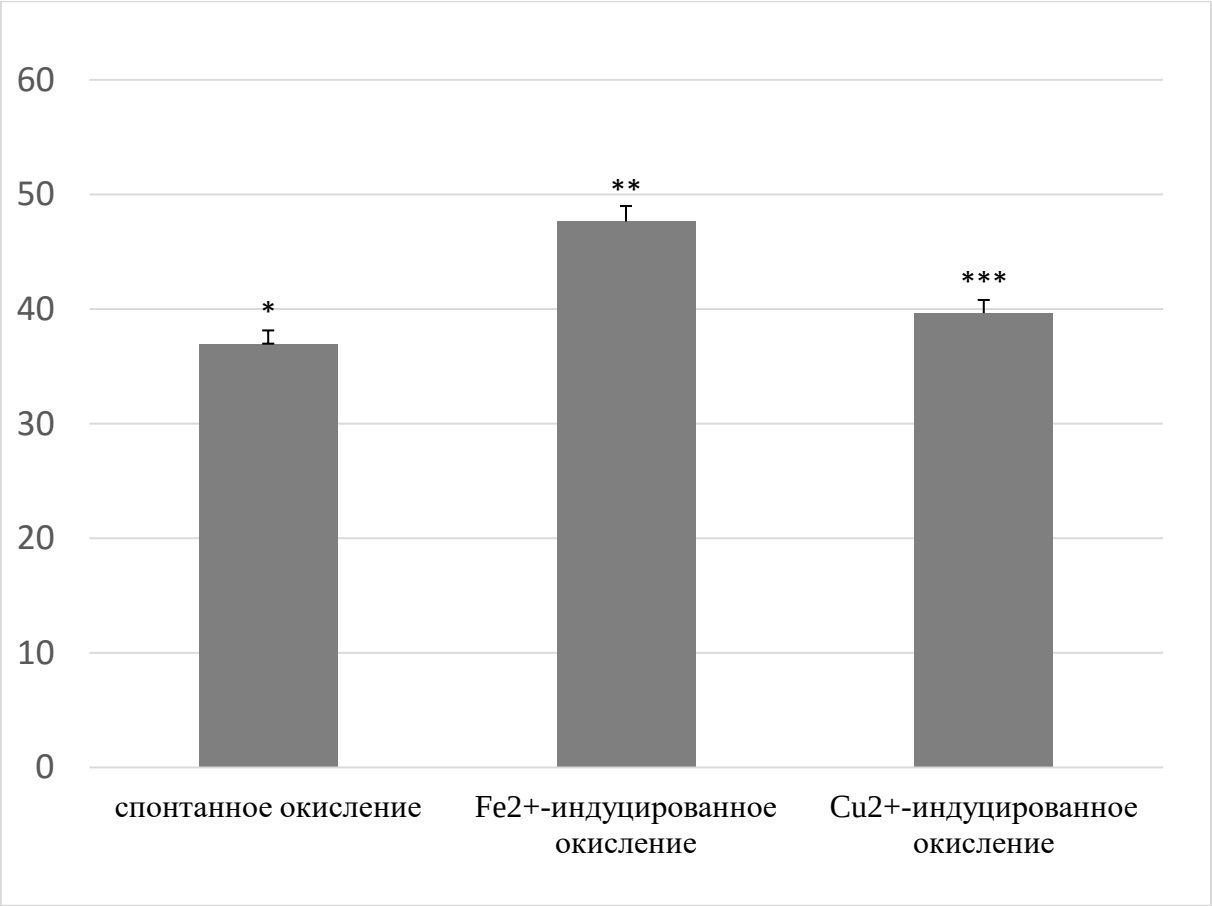

Рис. 5. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности препарата мелаксен (3 мг) в условиях спонтанного, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного свободно – радикального окисления (M±m,n=6). Здесь:- p<0,05 относительно чистой МБС, **- p<0,05 относительно МБС+ Fe^{2+}, *** - p<0,05 относительно МБС+ Cu^{2+}.*

На рисунке 6 аналогично представлен сравнительный анализ препарата метилэтилпиридинол с концентрацией активного вещества 10 мг в условиях спонтанного, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного свободно-радикального окисления. Как и в предыдущем случае можно пронаблюдать в целом выраженное увеличение степени антиоксидантной активности в условиях Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного окисления по сравнению со спонтанным.

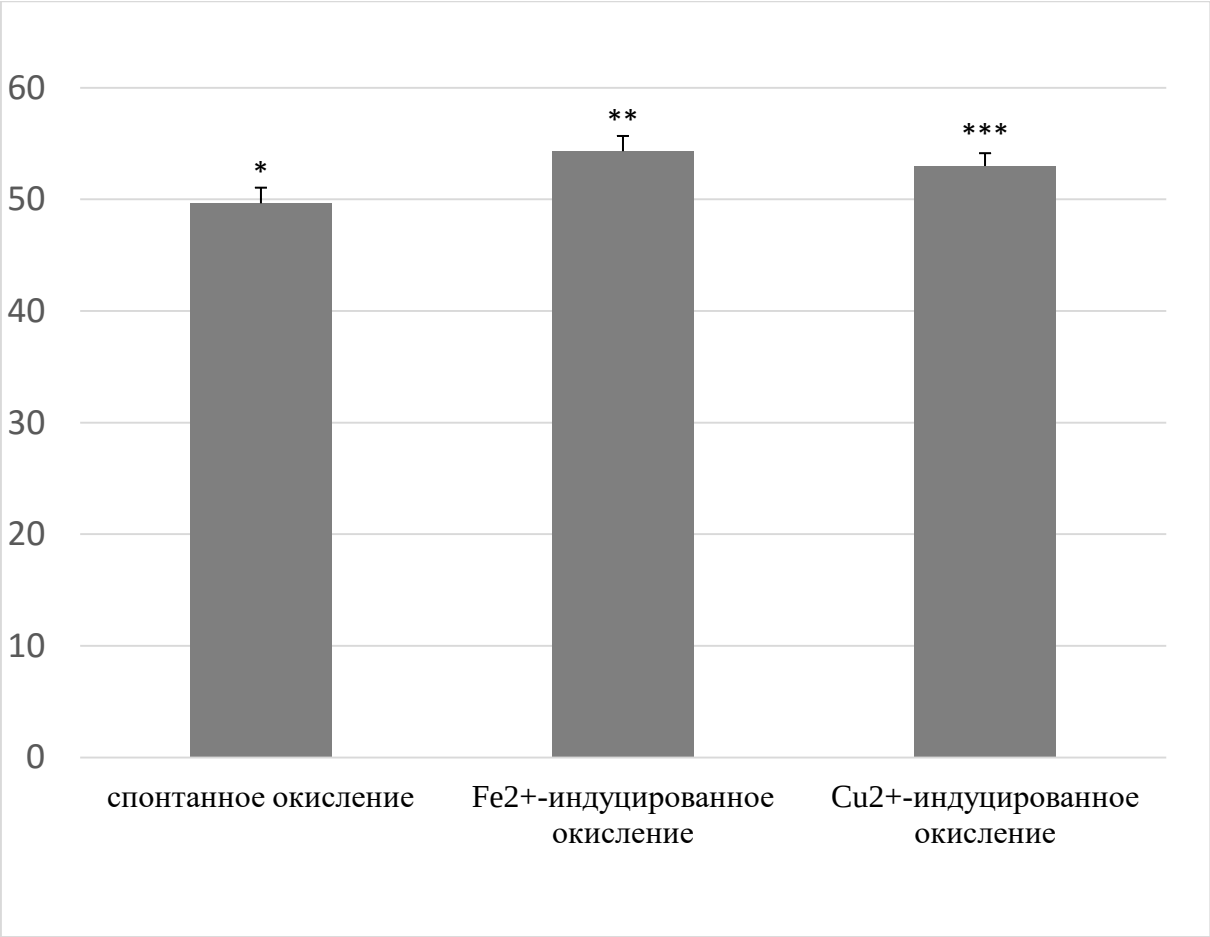

Рис. 6. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности препарата метилэтилпиридинол (10 мг) в условиях спонтанного, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного свободно – радикального окисления(M±m,n=6). Здесь:- p<0,05 относительно чистой МБС, **- p<0,05 относительно МБС+ Fe^{2+}, *** - p<0,05 относительно МБС+ Cu^{2+}.*

На рисунке 7 проиллюстрирован аналогичный сравнительный анализ антиоксидантной активности в случае с препаратом метилэтилпиридинол (5 мг). Согласно данному анализу степень антиоксидантной активности при Fe^{2+}-индуцированном свободно-радикальном окислении явно выражена по сравнению с другими способами окисления, а между спонтанным и Cu^{2+}-индуцированным свободно-радикальным окислением в меньшей степени. Подобное явление можно объяснить низкой концентрацией активного вещества в

исследуемом препарате, поэтому степень антиоксидантной активности будет ниже по сравнению с другими препаратами, а интервал полученных значений по сравнению с другими способами окисления варьируется менее заметно.

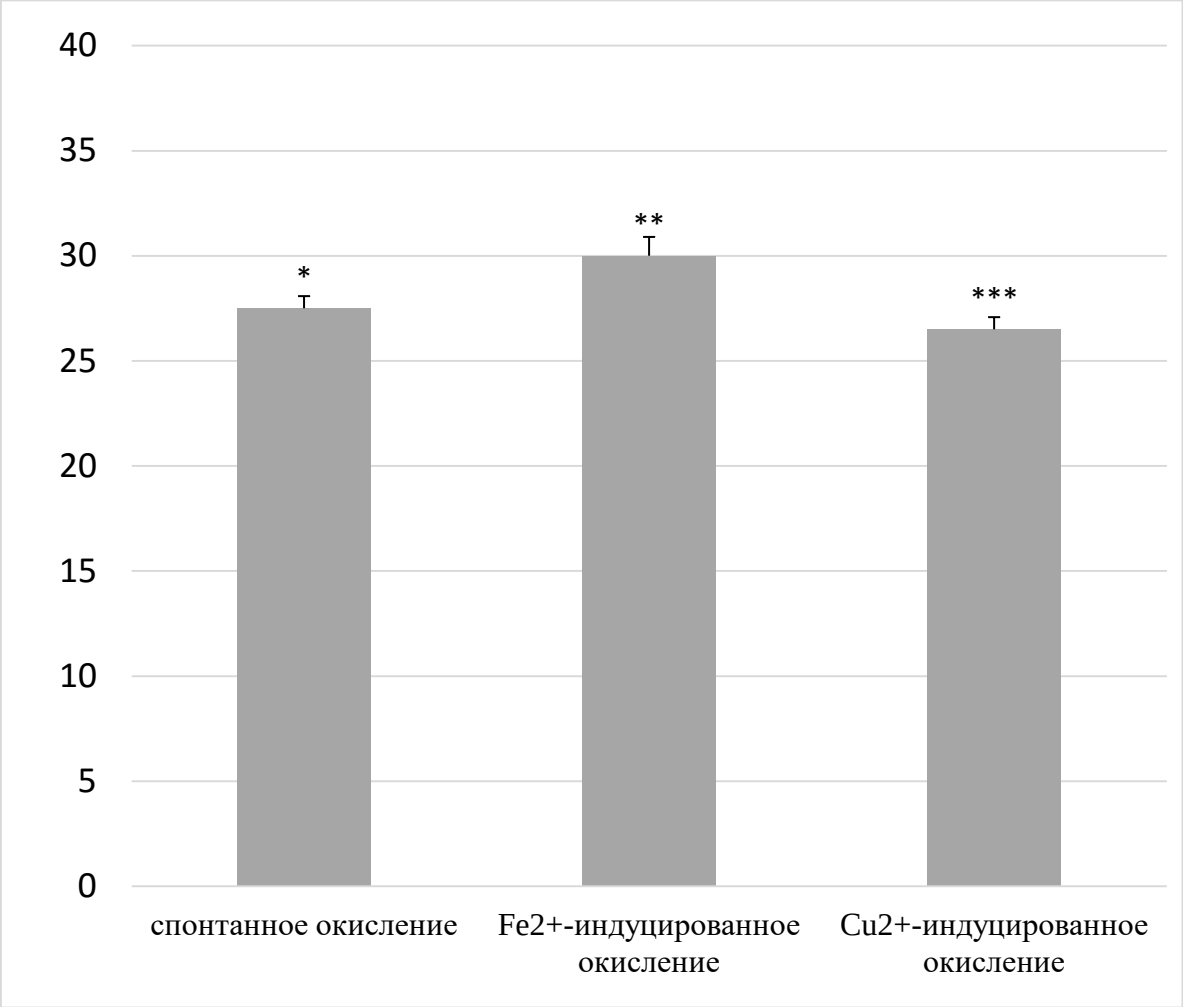

Рис. 7. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности препарата метилэтилпиридинол (5 мг) в условиях спонтанного, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированного свободно – радикального окисления. (M±m,n=6). Здесь:- p<0,05 относительно чистой МБС, **- p<0,05 относительно МБС+ Fe^{2+}, *** - p<0,05 относительно МБС+ Cu^{2+}.*

Анализируя 3 заявленных в данной работе вида окисления, можно сделать вывод, что при спонтанном окислении выраженность

антиоксидантной активности ниже, чем при Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированном свободно-радикальном окислении. При этом Fe^{2+}-индуцированном окислении препараты обладают самым высоким показателем антиоксидантной защиты, на втором месте Cu^{2+}-индуцированное свободно-радикальное окисление.

Таким образом, можно сделать вывод, что препараты, вводимые в модельную биологическую систему, обладают выраженной степенью антиоксидантной активности. Самый высокий показатель антиоксидантной активности из 3 исследуемых препаратов наблюдается у метилэтилпиридинола с концентрацией активного вещества 10 мг, во всех трех способах аутоокисления адреналина препарат показал высокий показатель антиоксидантной активности по сравнению с остальными. Следующим препаратом по степени выраженности АО активности является мелаксен (3мг). Наименьшим показателем антиоксидантной активности из заявленных препаратов обладает метилэтилпиридинол (5 мг). Низкий показатель напрямую связан с малой концентрацией активного вещества в препарате.

В связи с этим метилэтилпиридинол (10 и 5 мг) и мелаксен (3 мг) можно отнести к группе метаболиков и антигипоксантов. В качестве метаболического средства метилэтилпиридинол способен регулировать обменные процессы, протекающие в организме. Антигипоксанты – это лекарственные средства, повышающие устойчивость организма к кислородной недостаточности, то есть улучшающие утилизацию организмом активных форм кислорода и снижающие потребность в нем, что оказывает положительное влияние на энергетические процессы на молекулярном уровне.

Данные, полученные в работе, согласуются с данными литературы [27], которые доказывают, что антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему адреналин - адренохром, могут в разной степени проявлять антиоксидантные свойства, тормозя реакцию

аутоокисления адреналина. В связи с этим можно сделать вывод, что модельная биологическая система адреналин - адренохром является удачной тест – системой, которая позволяет проводить эксперименты в условиях in vitro. Так модельная биологическая система способна определять показатель антиоксидантной активности, выявлять, какой из исследуемых препаратов обладает высокой антиоксидантной активностью при различных условиях окисления.

ВЫВОДЫ

1. Исследован показатель антиоксидантной активности препаратов на модельной биологической системе при спонтанном, Fe^{2+}- и Cu^{2+}-индуцированном свободно-радикальном окислении.

2. Из заявленных препаратов наибольшим показателем антиоксидантной защиты обладает препарат метилэтилпиридинол (10 мг). Следующим по степени антиоксидантной активности является мелаксен (3 мг), последний – метилэтилпиридинол с концентрацией активного вещества 5 мг.

3. Среди трех исследуемых видов окисления наибольшую активность проявляет Fe^{2+}-индуцированное свободно-радикальное окисление, затем Cu^{2+}-индуцированное свободно-радикальное окисление. Наименьшая активность у спонтанного окисления.

Список литературы

1. Алексеев, В.Н. Клинико – экспериментальное изучение глаукомной нейроретинопатии, перспективы медикаментозной терапии / В.Н. Алексеев, Е.Б. Мартынова, В. И. Садков, О.А. Малеванная, И.А. Самусенко, В.Н. Абу Зайед / /Клиническая офтальмология. – 2003. – № 2. – С. 73.
2. Алексеев, В.Н. Клинико – морфологические изменения отрезка глаза при экспериментальной индуцируемой глаукоме / В. Н. Алексеев, Н.Ю. Чурилина // Клиническая офтальмология. – 2007. – №3. – С. 112.
3. Газизова, И.Р. Экспериментальное воспроизведение глаукомного процесса / И. Р. Газизова, Д. Н. Никитин // Офтальмологические ведомости. – 2013. – Т. 6, №3. – С. 43-47.
4. Гудков, С.В. Биоантиоксиданты. Часть 1 / С.В. Гудков, В. И. Брусков, А. В. Куликов, А. Г. Бобылёв, Д. А. Куликов , А. В. Молочков //Альманах клинической медицины. – 2014. – № 31. – С. 61-62.
5. Евсеева, М.А. Механизмы развития острой гипоксии и пути ее фармакологической коррекции /М.А. Евсеева, А.В. Евсеев, В.А. Правдивцев, П.Д.Шабанов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2008. – Т. 6, №1. – С. 3.
6. Еричев, В.П. Клинико – морфологические доказательства влияния консервантов на поверхность глаза при первичной открытоугольной глаукоме. / В.П. Еричев, К. Г. Амбарцумян, А.А. Федорова // Национальный журнал глаукома. – 2014. – № 4. – С. 14.
7. Захарова, Е.В. Способы определения растительных антиоксидантов, в том числе витаминов А,Е,С в продуктах питания и их роль в формировании иммунитета / Е.В. Захарова, Г.А. Донская // Эстафета поколений. – 2010. – С. 5.
8. Захарова, И.А. Влияние препаратов нейромедиаторного действия на течение глаукомного процесса / И.А. Захарова, Р.В. Авдеев, В.А.

Приставка, С.Н. Сурнин // Национальный журнал глаукома. – 2014. – №4. – С.41–42.

9. Карманова, Д.С.. Влияние низких доз гербицида 2,4 – дихлорфеноксиуксусной кислоты на выраженность окислительного стресса у животных /Д. С. Карманова // Вестник Оренбургского государственного университета. – 2015. – №9(184). – С. 88.
10. Кидун, К.А. Стресс - индуцированные изменения антиоксидантного статуса сперматозоидов и морфологии семенников крыс / К.А. Кидун, Е.К. Солодова, Т.С. Угольник, Р.В. Дорошенко // Проблемы здоровья и экологии. – 2014. – С. 125.
11. Кольтовер, В.К. Антиоксидантная медицина: от химии свободных радикалов к системно – биологическим механизмам / В.К Кольтовер // Известия Академии наук, Серия химическая. – 2010. – № 1. – С. 38.
12. Красиков, С.И. Взаимосвязь изменений активности ферментов антирадикальной защиты, происходящих в результате лечения и длительности последующей ремиссии / С.И. Красиков, В.Г. Лейзерман, Р.Ф. Тухватуллина, А.В. Карпец, В.В. Карпец // Вопросы наркологии. – 2008. – № 6. – С.14.
13. Куликов, В.Ю. Дистантное и контактное влияние окисляющегося адреналина на гемоглобин крови человека in vitro / В. Ю. Куликов, Е. А. Арчибасова // Медико – биологические науки. – 2016. – № 1. – С. – 7.
14. Куроедов, А.В. Первичная открытоугольная глаукома: в каком возрасте пациента и при какой длительности заболевания может наступить слепота / А.В. Куроедов, Р.В. Авдеев, А.С. Александров, Н.А. Бакунина, А.С. Басинский, Е.А. Блюм, А.Ю. Брежнев, Е.Н. Волков, И.Р. Газизова, А. Б. Галимова, О.В. Гапонько, В.В. Гарькавенко, А.М. Гетманова, В.В. Городничий, М.С. Горшкова, А.А. Гусаревич, С.В. Диордийчук, Д.А. Дорофеев, С.А. Жаворонков, П.Ч. Завадский, О.Г. Зверева, У.Р. Каримов, А.В. Кулик, С.Н. Ланин, Дж.Н. Ловпаче, И.А.

Лоскутов, Е.В. Молчанова, В.Ю. Огородникова, О.Н. Онуфрийчук, С.Ю.Петров, Ю.И. Рожко, Т.А. Сиденко // Клиническая медицина. – 2014. – № 2(12). – С. 75.

15. Курышева, Н.И. Сравнительная характеристика антиоксидантной активности аналогов простагландинов для местного лечения глаукомы / Н.И. Курышева, ОА. Азизова, А. П. Пирязев // Национальный журнал глаукома. – 2014. – № 4. – С. 32.
16. Макарова, В.Г. Концентрация витамина А, параметры ПОЛ и антиоксидантной защиты при экспериментальном гепатозо – гепатите / В.Г. Макарова, Е.Н. Якушева, С.К. Правкин // Российский медико – биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2006. – № 4. – С. 30.
17. Миронова, О.П. Этомерзол как антиоксидантное средство /О. П. Миронова, И.В. Зарубина ,П. Д. Шабанов / / Биомедицинская химия. – 2003. – Т. 49, №5. – С. 434.
18. Михайлова, И.В. Некоторые показатели состояния антиоксидантных систем эритроцитов крови при действии бензола и хрома / И.В. Михайлова, Н.В. Шарапова, Л.А. Чеснокова, А.И. Смолягин, С.И. Красиков // Здоровье населения и среда обитания. – 2013. – № 6 (243). – С. 42.
19. Михайлова, И.В. Некоторые показатели микроэлементарного и антиоксидантного статуса крыс при хромовой интоксикации / И. В. Михайлова, Л. А. Чеснокова, Н.В. Шарапова, А.И.. Смолягин, С. И. Красиков // Гигиена и санитария. – 2014. –№ 3. – С. 72.
20. Михейцева, И.Н. Модели глаукомы, преимущества и недостатки. Адреналин – индуцированная глаукома как адекватная модель глаукомного процесса человека / И.Н. Михейцева // Офтальмологический журнал. – 2011. – № 3. – С. 90.

21. Михейцева, И.Н. Стресс-индуцированная дизрегуляция при глаукомном процессе и купирующее влияние мелатонина / И.Н. Михейцева, В.Н. Ельский // Патология. – 2011. – № 2. – С. 66-67.
22. Михейцева, И.Н. Эндотелиопротекторное влияние антагониста кальция верапамила при глаукоме в эксперименте / И.Н. Михейцева // Экспериментальная патология и патологическая физиология. – 2009.– Т. 4, №2. – С.48.
23. Михейцева, И.Н. Эффективность корвитина в нормализации глазного кровоснабжения и динамики внутриглазной жидкости / И. Н. Михейцева // Одесский медицинский журнал. – 2010. – № 3(119). – С. 9, 11–12.
24. Михейцева, И.Н.Лекарственные средства метаболического действия при лечении первичной глаукомы – экспериментальное обоснование возможности и эффективности применения / И.Н. Михейцева // Офтальмология. – 2011. – №363. – С. 72.
25. Наймушина, Л.В. Ингибирование реакции аутоокисления адреналина биологически активными веществами помело / Л.В. Наймушина, А.Д. Саторник, И.Д. Зыкова // Вестник КрасГАУ. – 2015. – № 7. – С 116.
26. Никитин, Д.Н. О роли митохондриальной дисункции в прогрессировании глаукомной нейрооптикопатии / Д.Н. Никитин, Фарзад Захеди, Ринджибал Ал – Майсам // Практическая медицина. – 2012. – № 4(59). – С. 223.
27. Окуневич, И.В. Антиоксиданты: эффективность природных и синтетических соединений в комплексе терапии сердечно – сосудистых заболеваний / И. В. Окуневич, Н. С. Сапронов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. . – 2004. – Т. 3, №3. – С. 4.
28. Пасечникова, Н.В. Вопросы регуляции эндотелия в патогенезе первичной глаукомы / Н. В. Пасечникова,И. Н. Михейцева , В. Н. Ельский // Национальный журнал глаукома. – 2014. – № 4. – С. 5-7.

29. Рябинина, Е.И. Новый подход в оценке антиоксидантной активности растительного сырья при исследовании процесса аутоокисления адреналина / Е.И. Рябинина, Е.Е. Зотова,Е.Н. Ветрова, Н.И. Пономарева, Т.Н. Илюшина Т.Н // Химия растительного сырья. – 2011. – № 3. – С. 117.
30. Рябинина, Е.И. Сравнение химико – аналитических методов определения танидов и антиоксидантной активности растительного сырья / Е.И. Рябинина, Е.Е. Зотова, Е.Н. Ветрова, Н.И. Пономарева// Аналитика и контроль. – 2011. –Т. 15, № 2. – С. 202-203.
31. Сазонова, К.А. Генерация супероксидного анион – радикала в листьях растений при хроническом действии тяжелых металлов / К.А. Сазонова, Д.И. Башмаков, А.С. Лукаткин // Труды Карельского научного центра РАН. – 2012. – № 2. – С.120.
32. Свириденко, В.Г. Накопление микроэлементов и аскорбиновой кислоты в лекарственных растениях / В.Г. Свириденко, А.В. Хаданович, А.В. Лысенкова, В.А. Филиппова // Проблеы здоровья и экологии. – 2012. – № 3. – С. 138.
33. Сирота, Т. В. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы / Т.В. Сирота // Биомедицинская химия. – 2013. – Т. 59, № 4. – С. 408.
34. Сирота, Т.В. Новый подход в исследовании реакции автоокисления адреналина: возможность полярографического определения активности супеороксиддисмутазы и антиоксидантных свойств различных препаратов. /Т. В. Сирота // Биомедицинская химия. – 2012. – Т. 58, № 1. – С. 85 – 86.
35. Сирота, Т.В. Участие карбонат/ бикарбонатных ионов в супероксидегенерирующей реакции автоокисления адреналина / Сирота Т.В // Биомедицинская химия.– 2015. – № 1. – С.115 – 116.

36. Соловых, Г.Н.Реакция защитных ферментов двустворчатых моллюсков вида Unio pictorum на воздействия свинца и ртути / Г.Н. Соловых, В.В. Минаков, И.В. Карнаухова, В.В. Минакова, Т.В. Осинкина // Вестник ОГУ – 2011. – № 12(131). – С. 245 – 246.
37. Федченко, И.А. Природные и синтетические антиоксиданты, применение в пищевой промышленности / И.А. Федченко, Н.А. Притыкина // Глобальная научная интеграция. –2012.– № 6. – С.84.
38. Филина, Н.В. Содержание иммуноглобулинов А, М, G в слезной жидкости у больных первичной открытоугольной глаукомой / Н.В. Филина, Д.А. Рукина, Е. В. Маркелова, В.Я. Мельников // Национальный журнал глаукома. – 2014. – №4. – С. 74.
39. Фролов, М.А. Глаукома как митохондриальная патология / М.А. Фролов // Клиническая офтальмология. – 2011. – Т. 12, №4. – С. 123.
40. Ханина, М.А. Agrimonia Pilosa – перспективный источник биоантиоксидантов /М. А. Ханина , М. Г. Ханина, А. П. Родин, Ю. В. Лигостаева // Медицинские науки. – 2015. – №6. – С.3- 8.
41. Хасанова, С.Р. Сравнительное изучение антиоксидантной активности растительных сборов / С.Р. Хасанов, Т.И. Плеханова, Д.Т. Гашимова, Э.Х. Галиахметова, Е.А. Клыш // Вестник ВГУ, серия: химия, биология. Фармация. – 2007. – № 1. – С. 164.
42. Хижкин, Е.А. Возрастные изменения физиолого – биохимических показателей у грызунов с различной экологической специализацией / Е.А. Хижкин, Е.П. Антонова, В.А. Илюха, Л.Б. Узенбаева, Т.Н. Ильина, И.В. Баишникова, В.В. Белкин, Д.В. Шведов // Труды Карельского научного центра РАН. – 2015. – № 11. – С. 15.
43. Чеснокова, Л.А. Взаимосвязь между содержанием редокс – активных веществ в окружающей среде и выраженностью оксилительного стресса у людей и у животных /Л.А. Чеснокова, Н.А. Кузьмичева. В.М. Боев, С.И. Красиков, И. В. Михайлова, И.П. Воронкова // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – № 6. – С. 589.

44. Чеснокова, Л.А. Влияние органических и неорганических экотоксикантов на некоторые показатели иммунной системы крыс / Л.А. Чеснокова, И.В. Михайлова, Д.С. Карманова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2015. – № 6. – С. 254.
45. Чеснокова, Л.А. Влияние пестицидов и катионов железа на показатели иммунной системы и липопероксидацию крыс вистар / Л.А. Чеснокова, И.В. Михайлова, С.И. Красиков, Е.Н. Лебедев, И.П. Воронкова, Д.С. Карманова //Интеллект. Инновации. Инвестиции. – 2015. – №1. – С. 154.
46. Щулькин, А.В. Исследования прямой антиоксидантной активности Фитоэкдистерона in vitro / А. В. Щулькин ,Е. Н. Якушева,В. В. Давыдов, В.Н Дармограй // Российский медико – биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2012. – № 1. – С. 51.
47. Юрченко, Д.Н. Исследование биологических свойств нового производного теофиллина - Соединения С -3 / Д.Н. Юрченко, Е.В. Александрова, А.С. Шкода, И.Ф. Беленичев, Н.И. Романенко // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. 20, №1. – С. 115.
48. Al-Majedy, Y. K. Antioxidant Activities of 4-Methylumbelliferone Derivatives/ Y. K. Al-Majedy, A. A. Al-Amiery , A. A .H. Kadhum, A. B. Mohamad // Plos One. – 2016. – № 5(31). – P.37–51.
49. Chen, B. H. Pretreated quercetin protects gerbil hippocampal CA1 pyramidal neurons from transient cerebral ischemic injury by increasing the expression of antioxidant enzymes / B. H. Chen, J. H. Park, J. H. Ahn, Jeong H. Cho, I. H. Kim, J. C. Lee, M. Won, C. Lee, I. K. Hwang, J. Kim, I. J. Kang, J. H. Cho, B. N. Shin, Y. H. Kim, Y. L. Lee, S. M. Park // Neural Regeneration Research. – 2017. – № 2. – P. 220 – 227.
50. Csepanyi, E. Antioxidant Properties and Oxidative Transformation of Different Chromone Derivatives /E. Csepanyi, P. Szabados-Furjesi, A.

Kiss-Szikszai, L. M. Frensemeier, U. Karst, I. Lekli, D. D. Haines, A. Tosaki, I. Bak //Molecules. – 2017. – № 4. – P. 588.

51. Döppler, H. Mitochondrial and Oxidative Stress-Mediated Activation of Protein Kinase D1 and Its Importance in Pancreatic Cancer / H. Döppler, P. Storz // Front Oncol. – 2017. – № 7. – P. 41.

52. Lee, Y. Implications of red Panax ginseng in oxidative stress associated chronic diseases / Yi.. Lee, H. Yoon, H. Park, B. C. Song, K. Yeum //Elsevier. – 2017. – P. 113 – 119.

53. Li, N. Mitochondrial Complex I Inhibitor Rotenone Induces Apoptosis through Enhancing Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production / N. Li, K. Ragheb, G. Lawler, J. Sturgis, B. Rajwa, J. A. Melendez , J. Robinson // Journal of biological Chemystry. – 2003. – № 7. – P. 8516 – 8525.

54. Lu, X. Selenium- and Tellurium-Based Antioxidants for Modulating Inflammation and Effects on Osteoblastic Activity / X. Lu, G. Mestres, V. Singh, P. Effati, J. Poon, L. Engman, M. K. Ott //Antioxidants. – 2017. – № 6. – P. 13.

55. Marreiro, D. Zinc and Oxidative Stress: Current Mechanisms / D. Marreiro , K. J. Cruz, J. B. Morais, J. B.a Beserra, Severo, A. de Oliveira // Antioxidants . – 2017. – № 6. – P. 24.

56. Misra, H. P. The Role of Superoxide Anion in the Autoxidation of Epinephrine and a Simple Assay for Superoxide Dismutase / H. P. Misra, I. Fridovich // The Journal of Biological Chemistry. – 1971. – P. 3170 – 3175.

57. Morceli, G. Antioxidant Effect of Melatonin on the Functional Activity of Colostral Phagocytes in Diabetic Women/ G. Morceli, A. C. Honorio , D. L. G. Fagundes, I. M. P. Calderon, E. L. França // Plos One. – 2013. – № 2(20) – P.21– 32.

58. Su, D. Comparision of Piceid and Resveratrol in Antioxidation and Antiproliferation Activities In Vitro/ D.Su ,Y. Cheng , M. Liu ,D.Liu, H.

Cui, B. Zhang, S. Zhou ,T. Yang ,Q. Mei //Plos One. – 2014. – № 1(16). – P.34 – 48.

59. Torres – Cuevas, I. Oxygen and oxidative stress in the perinatal period / I. Torres-Cuevas, A. Parra-Llorca, A. Sánchez-Illana, J. Kuligowski, M. Cernada, J. Escobar, M. Vento // Elsevier. – 2017. – P. 674 – 681.

60. Urso, M. L. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation / M. L. Urso, P. M. Clarkson // Toxicology – 2003. – P. 41– 54.

61. Xu, X. In Vitro Synergistic Antioxidant Activity and Identification of Antioxidant Components from Astragalus membranaceus andPaeonia lactiflora/X. Xu , F. Li , X. Zhang, P. Li, Z. Wu, D. Li // Plos One. –2014. – №5(9). – P.65– 78.

62. Аптека. Ру (Офиц. сайт) URL:http://apteka.ru/catalog/melaksen-0003-n24-tabl-po_88430/ (Дата обращения – 17.05.17).

63. Аптека. Ру (Офиц. сайт) URL: http://apteka.ru/catalog/metiletilpiridinol-0-01-ml-1ml-n10-amp-r-r-d-in-_56c5a7773dd10/ (Дата обращения – 19.05.17)

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
06.03.01Биология
Профиль подготовки «Биохимия»

Утверждаю:
Зав. кафедрой
_____ Г.А. Карпова
«02» 11 2016г.

Задание

По ВКР студента Красиловой Алёны Вячеславовны

Тема работы «Исследование влияния антиоксидантов на реакцию аутоокисления адреналина»

Утверждена приказом по Университету от «6» декабря 2016 г. № 1191а/о

Срок сдачи студентом законченной работы «26» мая 2017 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки выполнения этапов	Примечания
1.	Анализ литературы по теме исследования. Написание введения, обзора литературы	16.11.16-15.12.16	Выполнено Выполнено
2.	Подбор модельной биологической системы.	20.12.16-20.01.17	Выполнено
3.	Постановка методов биохимических исследований.	25.01.17-20.02.17	Выполнено
4.	Подбор материала биохимических исследований.	25.02.17-23.03.17	Выполнено
5.	Написание главы 2 «Материал и методы исследования».	25.03.17-15.04.17	Выполнено
6.	Проведение экспериментальной части.	17.04.17-10.05.17	Выполнено
7.	Обработка полученных результатов.	11.05.17-17.05.17	Выполнено
8.	Написание главы 3 «Результаты и их обсуждение».	18.05.17-22.05.17	Выполнено
9.	Написание выводов.	23.05.17	Выполнено
10.	Оформление списка литературы.	24.05.17-27.05.2017	Выполнено

Дата выдачи задания «2» 11 2016 г.

Руководитель _____ Н.В. Безручко
)

Задание принял к исполнению _____
(подпись)