

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
ИНТЕНСИВНОСТЬ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ В
МОДЕЛЬНОЙ БИОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЕ ЖЕЛТОЧНЫХ
ЛИПОПРОТЕИДОВ»

Студент Шилова Шилова Екатерина Анатольевна

Научный руководитель Рубцов Рубцов Г. К.

Нормоконтролёр Кручинина Кручинина А.Д.

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

Заведующий кафедрой Карпова Карпова Г.А.

Работа защищена с отметкой отлично (протокол заседания ГЭК от 19.06.17 № 8)

Секретарь ГЭК Кручинина Кручинина А.Д.

Пенза, 2017

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	3
ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	6
1.1 Биохимическая характеристика желточных липопротеидов (ЖЛП) как модельной биологической системы (МБС).....	6
1.1.1 Общая характеристика липопротеидов	6
1.1.2 Модельная биологическая система желточных липопротеидов	7
1.2. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) и его биологическое значение.....	9
1.3. Взаимосвязь антиоксидантной защиты (АОЗ) и перекисного окисления липидов (ПОЛ)	13
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	21
2.1 Материал исследования.....	21
2.2 Методы исследований	21
2.2.1 Мексиприм	22
2.2.2 Кудесан форте.....	23
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	26
ВЫВОДЫ	41
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	42

Список сокращений

АКМ – активные метаболиты кислорода

АО - антиоксиданты

АОА – антиокислительная активность

АОЗ – антиоксидантная защита

АОС – антиоксидантная система

ЖЛП – желточные липопроотеиды

ЛВП – липопроотеиды высокой плотности

ЛНП – липопроотеиды низкой плотности

ЛОНП – липопроотеиды очень низкой плотности

ЛПП – липопроотеиды промежуточной плотности

МБС – модельная биологическая система

МДА – малоновый диальдегид

ПОЛ – перекисное окисление липидов

ХМ – хиломикроны

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Живой организм – сложная система, в которой происходит множество биохимических процессов, совокупность которых обеспечивает важнейшие функции организма [3]. Одним из главнейших механизмов нормального развития организма является поддержание баланса процессов свободнорадикального и перекисного окисления различных субстратов и состояния антиоксидантной защиты. Реакции перекисного окисления липидов все время протекают в организме. Исследования процессов ПОЛ и состояния антиоксидантной системы приобрели статус традиционных и рутинных способов оценки резистентности организма в условиях экзо- и эндогенной интоксикации в клинической и экспериментальной практике [3,13,27]. Оценке диагностической значимости изменений активности ПОЛ и АОЗ посвящены работы многих исследователей. Анализ полученных данных позволяет сделать вывод о том, что показатели активности ПОЛ и АОЗ достаточно объективно характеризуют тяжесть и развитие патологических состояний [8]. Продукты, образующиеся в процессе ПОЛ ингибируют ферменты, нарушают целостность мембран, разобщают процессы окислительного фосфорилирования.[27,28,31]. Скорость перекисного окисления липидов регулируют антиоксидантные системы. На этих данных основаны экспериментальные и клинические работы, посвященные изучению взаимоотношения процессов липопероксидации и антирадикальной защиты при многих патологических состояниях [25].

Исследовать процессы ПОЛ на практике *in vivo* не всегда представляется возможным, так как клетки живого организма в реальных условиях получить достаточно тяжело, а также они обязывают провести научное исследование в достаточно сжатые сроки, что часто влияет на полученные результаты. Для того, чтобы проводить подобные научные работы были разработаны модельные биологические системы. Такие

системы максимально точно воссоздают условия живого организма и позволяют проводить исследования в более широкие сроки. Одной из таких МБС является система желточных липопротеидов. Данная система готовится на основе желтка куриных яиц [26,46]. Современные авторы также характеризуют МБС ЖЛП как удобную для постановки эксперимента в условиях *in vitro*, потому что она максимально проста в приготовлении и применении.[46]. Наряду с этим соответствующий метод обладает высокой специфичностью, достаточной для обнаружения минимальных изменений уровня ПОЛ, высокой чувствительностью и хорошей воспроизводимостью при умеренной количестве повторов [22].

Цель работы: исследовать влияние антиоксидантов на интенсивность перекисного окисления липидов в модельной биологической системе желточных липопротеидов.

Задачи:

1. Изучить показатель антиоксидантной активности модельной биологической системы желточных липопротеидов в условиях спонтанного, Fe^{2+} - и Cu^{2+} - индуцированного свободно-радикального окисления;
2. Исследовать показатель антиоксидантной активности модельной биологической системы ЖЛП при введении в нее антиоксидантов (Кудесан 3%, Кудесан 6%, Мексиприм) в условиях спонтанного, Fe^{2+} - и Cu^{2+} - индуцированного свободно- радикального окисления.
3. Изучить, какой из трех видов окисления способствует проявлению наивысших показателей антиоксидантной активности.

Бакалаврская работа написана на 51 странице, содержит 7 рисунков, 4 таблицы и список литературы на русском и английском языках из 74 источников.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Биохимическая характеристика ЖЛП как МБС

1.1.1 Общая характеристика липопroteидов

Все липиды плазмы крови находятся в составе липопroteидов [60].

Липопroteиды — класс сложных белков, простетическая группа которых представлена каким-либо липидом. В составе липопroteидов могут быть свободные жирные кислоты, нейтральные жиры, фосфолипиды, холестериды. Липопroteиды классифицируют на свободные, или растворимые в воде (липопroteиды плазмы крови, молока и др.), и нерастворимые, т. е. структурные (липопroteиды мембран клетки, миелиновой оболочки нервных волокон, хлоропластов растений). Среди свободных липопroteидов наиболее изученными являются липопroteиды плазмы крови, которые классифицируют по их плотности [41]. Выделяют липопroteиды высокой плотности (ЛВП), липопroteиды низкой плотности (ЛНП), липопroteиды промежуточной, или средней плотности (ЛПП/ЛСП), липопroteиды очень низкой плотности (ЛОНП) и хиломикроны (ХМ) [35,41].

ЛВП- синтезируются в печени и кишечнике. Они транспортируют холестерин из периферических тканей в печень, то есть удаляют холестерина из тканей. В дальнейшем ХС выводится с желчью. Содержат до 20 % ХС, до 50 % белка и около 30 % фосфолипидов. В организме липопroteиды высокой плотности осуществляют защитную, антиатерогенную функцию

ЛНП - образуются в кровеносном русле из ЛОНП через стадию образования липопroteидов промежуточной плотности.

Они являются основной транспортной формой холестерина, которая переносит его в виде эфиров холестерина в ткани. Транспортируют 2/3 всего холестерина. Обладают наиболее атерогенными свойствами.

ЛОНП - образуются в печени. Являются субстратом для синтеза ЛПП и ЛНП, транспортируют эндогенный жир, синтезированный в печени из углеводов, в жировую ткань. Являются атерогенным классом липопротеидов.

ХМ - образуются при всасывании в стенке кишечника. Имеют функцию переноса триглицеридов пищевого происхождения из кишечника в печень и ткани, а также транспорт экзогенного холестерина из кишечника в печень. В плазме здорового человека натошак не содержатся [35,41,60].

Баланс атерогенных (ЛОНП и ЛНП) и антиатерогенных (ЛВП) определяется скоординированной работой кишечника, где образуются ХМ и небольшое количество ЛПОНП; жировой ткани, где образуются ЛПОНП и частично ХМ; печени, где образуются и разрушаются все липопротеиды крови, и системы кровообращения, где происходит трансформация ХМ и ЛПОНП в ЛВП и, частично, в ЛПНП под влиянием липопротеиновой липазы (ЛПЛ). Полностью скоординированная работа всей системы нарушается при генетических дефектах, неправильном питании, снижении физической активности, длительном психоэмоциональном напряжении и некоторых заболеваниях (диабет). Избыточное содержание в крови атерогенных ЛПОНП и ЛПНП и низкое содержание антиатерогенных ЛВП является общим для всех состояний. Ситуация может усугубляться появлением в большом количестве модифицированных форм ЛНП, которые активно захватываются макрофагами, находящимися в участках жировой инфильтрации сосудов эластического типа [35].

1.1.2 Модельная биологическая система желточных липопротеидов

Разработка модельных систем перекисного окисления липидов, с помощью которых можно не только выявить наличие антиоксидантных свойств у химических соединений, но и изучить механизм и действие

веществ в различных условиях протекания процессов ПОЛ, на данный является актуальной [18]. При разработке МБС ПОЛ для экспериментов *in vitro*, позволяющих адекватно оценить анти- и прооксидантную активность химических соединений, необходимо решить несколько проблем, связанных с особенностью протекания реакций ПОЛ, а именно с выбором субстрата ПОЛ, системы инициации радикальных реакций и способа оценки интенсивности ПОЛ. В первую очередь следует отметить, что в организме субстратом реакций ПОЛ являются липофильные соединения, локализованные в мембранах и иных липидных структурах, а инициаторами – гидрофильные АФК, в дальнейшем развитии процесса могут принимать участие промежуточные липофильные радикальные продукты ПОЛ [22].

В данной работе будет использоваться модельная система, представляющая собой суспензию липопротеидов желтка куриных яиц. Выбранная модель имеет преимущества: она доступна, выделение липопротеидов осуществляется легко, модель стабильна при хранении и вместе с тем обладает высокой окисляемостью [22,26].

1.2 ПОЛ и его биологическое значение

Живые организмы различными способами реагируют на изменения окружающей среды. С помощью генетического аппарата, изменения функционирования практически всех органов и систем организма, изменения метаболизма клетки достигается формирование защитных эффектов. Стресс-реакцию вызывают любые сильные воздействия окружающей среды. При недолговременном воздействии стрессов умеренной интенсивности наблюдается усиление функционирования систем органов, а также общая мобилизация организма. При интенсивной стресс-реакции в клетках активируются процессы свободнорадикального окисления, внутриклеточная кальциевая перегрузка, угнетение энергопродукции, снижение синтеза белка

и денатурация белковых структур. Все это оказывает повреждающее действие на органы и ткани. Тем самым, стресс-реакция из адаптивного звена превращается в патогенетическое звено. Стресс-лимитирующие системы препятствуют активации стресс-систем и реализации повреждающих эффектов. Так одним из возможных компонентов быстрой реакции на стресс является активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) [16,25,31].

Липиды могут окисляться *in vitro*, и *in vivo*. В живом организме процесс аутоокисления липидов является медленным процессом. Однако, при создании условия, в которых липиды могут подвергнуться свободно-радикальной атаке, они теряют атом водорода, переходят в свободно-радикальную форму ($L\cdot$) и легко взаимодействуют с молекулярным кислородом-переокисляются ($LO\cdot$). Подобный процесс называется перекисным окислением липидов [59].

Перекисное окисление мембранных фосфолипидов является самым распространенным механизмом деструкции мембранных структур. Оно происходит при развитии целого ряда патологических состояний. Однако, процессы ПОЛ протекают и в нормальных клетках. Они регулируются рядом ферментов: НАДФ(Н)-зависимыми микросомальными оксигеназами, циклооксигеназами и липоксигеназами [58]. Реакции ПОЛ являются свободнорадикальными и постоянно протекают в организме [1,4,7,15,29,36,64]. Свободнорадикальное окисление нарушает структуру многих молекул [1,5,9,11,20,34,56,66].

Современные представления о механизмах ПОЛ свидетельствуют о возможности непосредственного присоединения к органическим молекулам молекул кислорода [34,49]. Основным субстратом ПОЛ являются полиненасыщенные цепи жирных кислот, входящих в состав фосфолипидов клеточных мембран, а также липопротеидов [17,44].

Перекисное окисление липидов — сложный процесс, который протекает как в животных, так и в растительных тканях. Данный процесс включает в себя активацию и деградацию липидных радикалов, встраивание

в липиды предварительного активированного молекулярного кислорода, реорганизацию двойных связей в полиненасыщенных ацилах липидов и, как следствие, деструкцию мембранных липидов и самих биомембран. Целый ряд продуктов (спирты, кетоны, альдегиды, эфиры) образуются в результате развития свободнорадикальных реакций ПОЛ. Например, только при окислении линолевой кислоты образуется около 20 продуктов ее распада. Биологические мембраны содержат в себе очень большое количество ненасыщенных жирных кислот, металлопротеины, активирующие молекулярный кислород. Поэтому неудивительно, что в них могут развиваться процессы ПОЛ. [42,51].

Процесс перекисного окисления липидов можно схематично представить следующим образом. Сначала образуется липидный радикал, в результате чего формируются двойные сопряженные связи. Затем атака молекулярного кислорода приводит к образованию перекисного радикала, который может взаимодействовать с другой молекулой липида, разрушает ее с образованием нового липидного радикала. Одним из продуктов такой реакции является гидроперекись липида — сравнительно устойчивое соединение. Также из перекисного радикала может образовываться эндоперекисный радикал липида. Распад такого радикала приводит к формированию ряда продуктов, в том числе малонового диальдегида [58]. Реакция МДА с первичными аминами приводит к образованию шиффовых оснований [59]. МДА также способствует перекрестному связыванию и полимеризации компонентов мембран, при этом повреждая их важнейшие функции и свойства (текучесть, ионный транспорт, ферментативная и рецепторная активности, агрегирующая способность детерминантов клеточной поверхности и другие). МДА имеет возможность связываться с азотистыми основаниями ДНК, поэтому малоновому диальдегиду приписывается роль мутагенного, генотоксического и канцерогенного соединения [12,13,37].

Доказано, что при стрессе происходит повышенное образование активных форм кислорода, угнетение антиоксидантных ферментов, истощение неферментативных компонентов АОЗ [16,18]. Кислородные радикалы образуются в ходе процессов, связанных с транспортом электронов по дыхательной цепи. В стандартных условиях на генерацию АФК расходуется от 1 до 5% потребляемого кислорода. Однако, данная величина может сильно увеличиваться при изменении кислородного бюджета организма – при гипероксии или гипоксии. В результате последовательного восстановления молекулярного кислорода происходит образование супероксидного аниона, перекиси водорода, гидроксильного радикала [49]. Атака кислородными радикалами приводит к образованию гидрофобных радикалов, взаимодействующих друг с другом и в результате повреждающих ДНК и запускающих апоптоз [27]. Главным источником АФК служит молекулярный кислород, который в организме окисляется до воды. В норме в физиологических условиях. АФК образуются постоянно и участвуют в окислительно-восстановительных процессах [33,62].

Различные типы стрессовых воздействий могут как усиливать, так и ослаблять интенсивность ПОЛ в зависимости от своей силы, вида ткани и времени воздействия. Изменение скорости ПОЛ различных тканей в ответ на воздействие прооксиданта носит фазный характер, соответствующий фазам стрессорного ответа [28]. Длительное влияние стрессорного фактора вызывает активацию комплекса повреждающих механизмов, в первую очередь ПОЛ, и развитие самовегетативных нарушений [30,33]. Однако, вопрос об особенностях развития ПОЛ под влиянием стрессорного раздражителя различной силы остается малоизученным [27]. Избыточное образование продуктов ПОЛ имеет повреждающее воздействие на клетки и в целом на организм, что связано с накоплением перекисей липидов [24,50,53,68]. Продукты ПОЛ относятся к токсичным метаболитам, оказывающим повреждающее влияние на липопротеиды, белки, ферменты, нуклеиновые кислоты [51,58,73]. В белках окислению подвергаются

некоторые аминокислоты. В результате чего разрушается структура белков, между ними образуются ковалентные «сшивки». Это способствует активации протеолитических ферментов клетки, которые гидролизуют повреждённые белки. АФК нарушают и структуру ДНК. Неспецифическое связывание Fe^{2+} молекулой ДНК облегчает образование гидроксильных радикалов, разрушающих структуру азотистых оснований. Жирные кислоты, которые содержат двойные связи, расположенные через CH_2 -группу являются наиболее подверженными действию АФК, так как именно от этой CH_2 -группы свободный радикал (инициатор окисления) отнимает электрон, превращая липид, содержащий эту кислоту, в свободный радикал [51]. Процесс ПОЛ, постоянно идущий с разной интенсивностью в мембранах клеток организма, является неспецифическим механизмом, выполняющим важную роль в клеточном гомеостазе [27]. В настоящее время активация ПОЛ рассматривается как важнейший патогенетический механизм развития тяжелых форм патологии различных органов и систем, сопровождающихся повреждением субклеточных структур, вплоть до некроза клеток [17]. Активация ПОЛ приводит к глубоким нарушениям спектра липидов и эндотелия [41]. При развитии заболеваний баланс образования и расходования перекисей и других продуктов перекисного окисления липидов нарушается, метаболиты накапливаются в тканях и биологических жидкостях. Это приводит к серьезным нарушениям [5,59].

Согласно свободно –радикальной теории канцерогенеза, которая в настоящий момент времени активно изучается, синтез свободных радикалов при физиологических условиях полностью отвечает потребностям клеточного метаболизма, обеспечивающего нормальную жизнедеятельность клеток. Однако, при избыточном образовании свободных радикалов в организме, не соответствующих физиологическим нуждам, происходит реализация их альтернативного воздействия. В клетках наблюдается нарушение регуляторных и защитных функций. При внедрении в билипидный слой цитолеммы, свободные радикалы инициируют реакции

ПОЛ, которые ведут к повреждению мембран, нарушению их функций и к возможной неопластической трансформации [17,23,47].

Изменение структуры тканей в результате ПОЛ можно наблюдать на коже: с возрастом увеличивается количество пигментных пятен на коже. Этот пигмент называют липофусцин. Он представляет собой смесь липидов и белков, связанных между собой поперечными ковалентными связями и денатурированными в результате взаимодействия с химически активными группами продуктов ПОЛ. Пигмент фагоцитируется, но не гидролизруется ферментами лизосом, поэтому накапливается в клетках, нарушая их функции [51].

Практически при любой патологии и любом неблагоприятном (стрессовом) воздействии на организм активируются процессы ПОЛ, что приводит к накоплению токсических веществ, которые относят к эндотоксинам [24].

1.3 Взаимосвязь системы ПОЛ и АОЗ

В противовес свободнорадикальным процессам в организме присутствуют антиоксидантные системы (АОС), которые направлены на сохранение и поддержание гомеостаза в организме [17,39]. Сбалансированность процессов окислительно-антиоксидантной системы является непременным атрибутом здорового организма [7,61].

Антиоксиданты-вещества природного или синтетического происхождения, способные при химическом взаимодействии тормозить процессы свободнорадикального окисления. По механизму действия антиоксиданты делятся на препараты прямого и непрямого воздействия.

АО прямого действия подразделяются на:

- 1) Антирадикальные (токоферолы, фенольные антиоксиданты);
- 2) Разрушающие перекиси (тиоловые соединения);
- 3) Вещества-тушители, нейтрализующие АФ(каротиноиды).

К АО непрямого действия относятся вещества, участвующие в синтезе в живом организме биоантиоксидантов или ферментов АО [40].

Антиоксиданты могут вырабатываться самим организмом, тогда они называются ферментными, или поступать в организм извне – вместе с пищей, тогда они называются неферментными.

Ферментативные антиоксиданты (АО) характеризуются высокой специфичностью действия, а также клеточной и органной локализации, использованием в качестве катализаторов некоторых металлов (Cu, Zn, Mn, Fe). Уровень внутриклеточных ферментативных АО находится под генетическим контролем. У животных в условиях гипоксии и гипероксии, усиливающих образование АФК, повышается уровень внутриклеточных ферментов АО системы, что связано с механизмами поддержания устойчивости организма к окислительному стрессу [6]. Наиболее известными ферментами-антиоксидантами являются белки-катализаторы – супероксиддисмутаза (КФ 1.15.1.1), каталаза (КФ 1.11.1.6), пероксидаза (КФ 1.11.1.7). Они катализируют реакции, в результате которых токсичные свободные радикалы и перекиси превращаются в безвредные соединения [2,6].

Кроме ферментативных антиоксидантов существует группа веществ иного происхождения, способных блокировать реакции свободно-радикального окисления и восстанавливать окисленные соединения. К неферментативным антиоксидантам относят такие вещества, как витамин А, витамин С, витамин Е, марганец, медь, цинк, селен, биофлаваноиды (кверцетин, рутин, антоцианы, ресвератрол и др.) [39,40].

Многочисленные клинические данные подтверждают эффективность антиоксидантной терапии при различных патологических состояниях. Дополнительное усиление антиоксидантной защиты представляется целесообразным для пациентов с различными формами генерализованной инфекции. Поэтому контроль и ограничение свободнорадикального окисления липидов, а также разработка и обоснование использования

антиоксидантной терапии, является одним из наиболее перспективных направлений, имеющих важное прикладное значение. Например, при сепсисе потенциальную пользу могут принести такие эффекты антиоксидантов, как снижение способности эндотелиоцитов к активации при воспалении и ограничение апоптоза, оксидация липидов низкой плотности, а также снижение содержания молекул адгезии. В настоящее время имеются работы, посвященные использованию препаратов, положительно влияющих на транспорт кислорода и состояние антиоксидантной системы [6].

Защита от ПОЛ происходит на различных стадиях, основная задача АО– блокирование гидроперекисей [69]. АО замедляют процесс окисления путем взаимодействия с кислородом воздуха, прерывая реакции окисления, либо разрушая уже образовавшиеся перекиси [36,63].

ПОЛ является нормальным физиологическим процессом, а для нейтрализации избытка перекисных продуктов в организме имеется антиоксидантная система, препятствующая токсическому повреждению тканей [52,54]. Скорость перекисного окисления липидов регулируют антиоксидантные системы [36,37].

Оксидантно-антиоксидантный баланс клеток напрямую взаимосвязан с системой ПОЛ.

Важнейшей функцией антиоксидантной системы является инактивация негативного воздействия продуктов ПОЛ на клетки и ткани организма. Учитывая патогенетическую значимость дисбаланса оксидантной и антиоксидантной систем в обеспечении общего гомеостаза организма, при прогрессировании различных заболеваний необходимо своевременно диагностировать проявления окислительного стресса. Для адекватной клинической оценки, полученной при исследовании состояния систем антиоксидантной защиты, очень важное значение имеют показатели состояния антиоксидантной системы [39,72].

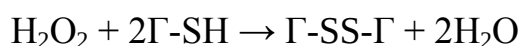
АОС многочисленны, действуют как синергисты, но при этом не обладают взаимозаменяемостью. Недостаточная активность даже одного

звена АОС, может привести к запуску каскада ПОЛ. Выделяют ферментативные и неферментативные составляющие звенья АОС. Ферментативное звено представлено глутатионпероксидазой (КФ 1.11.1.9), глутатионредуктазой (КФ 1.8.1.7), супероксиддисмутазой (КФ 1.15.1.1) и каталазой (КФ 1.11.1.6). Неферментативное звено АОС представлено соединениями низкомолекулярной и белковой природы: жирорастворимые антиоксиданты, серосодержащие аминокислоты, низкомолекулярные водорастворимые антиоксиданты и белковые антиоксиданты [6]. Они выполняют роль ловушек (перехватчиков) свободных радикалов. Они «тушат» свободные радикалы, забирают избыток энергии, тормозят развитие цепной реакции образования новых радикалов.

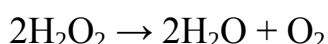
В основе ферментной защиты лежит другой механизм. Ферменты превращают активные формы кислорода в перекись водорода, а также менее агрессивные радикалы, а затем превращают их в воду и обычный кислород. Первая линия защиты регулируется супероксиддисмутазой (КФ 1.15.1.1), которая является ключевым ферментом антиоксидантной системы, катализируя реакцию дисмутации супероксидного аниона ($\bullet\text{O}_2^-$):



Затем, в уменьшении свободных радикалов принимают участие глутатионпероксидаза и каталаза. Глутатионпероксидаза (КФ 1.11.1.9) катализирует окисление восстановленной формы глутатиона (Г-SH) в присутствии H_2O_2 или липидного пероксида (LOOH).



Каталаза (КФ 1.11.1.6) расщепляет перекись водорода.



Фермент глутатионредуктаза (КФ 1.8.1.7) катализирует восстановление дисульфида глутатиона (окисленного глутатиона – Г-SS-Г) в глутатион (восстановленный Г-SH).

Таким образом, свободнорадикальные механизмы лежат в основе

развития многих заболеваний. Актуальными в настоящее время представляются работы по поиску эффективных и безопасных антиоксидантных препаратов [39].

Активация ПОЛ на фоне угнетения системы АОЗ считается одним из наиболее ярких проявлений оксидативного стресса [10,70]. Длительный и выраженный оксидативный стресс, сопровождающийся превращением первичных (полезных) радикалов в более активные формы кислорода, азота и липидов, приводит к оксидативному повреждению. Оксидативное повреждение сопровождается усилением процессов окислительной деструкции липидов, белков, нуклеиновых кислот, нарушением мобилизации антиокислительной защиты, активацией апоптоза и некроза [55,67].

Окислительный стресс – состояние, при котором происходит активация свободнорадикальных процессов на фоне депрессии или недостаточности естественных антиоксидантных систем. В обычных физиологических условиях существует определённое равновесие между данными системами. Протекающие в клетке процессы свободнорадикального окисления затрагивают все клеточные структуры и модифицируют работу многочисленных систем клеточного метаболизма [36,65,74].

Антиоксидантная система в клетке является иерархической и представлена тремя уровнями (степенями) защиты.

Первая ступень защиты предусматривает возможность детоксикации потенциально опасных супероксид аниона и пероксида водорода при участии супероксиддисмутазы (СОД) и каталазы. Фермент СОД находится в клетках в виде двух изоферментов: Cu, Zn- содержащая СОД растворимой фракции клеток и Mn- содержащая, локализованная в митохондриях. СОД осуществляет восстановление супероксидного радикала до перекиси водорода. После этого фермент каталаза разлагает образовавшуюся перекись до воды и молекулярного кислорода.

Вторая ступень защиты. Если все же произошло образование гидроксид радикала, и этот активный радикал индуцирует окисление

полиеновых липидов, то образовавшиеся подобным образом липидные радикалы могут быть обезврежены на второй линии защиты при взаимодействии с природным АО(витамином Е, или α -токоферолом). α -токоферол функционирует как «ловушка радикалов», перехватывая неспаренный радикал у липидных радикалов. В этом случае образуются малоактивные радикалы α -токоферола. Но их накопление тоже не является совсем безопасным, поскольку при определенных условиях они сами могут инициировать СРО. В модельной системе они способны индуцировать СРО ненасыщенных липидов ЛНП, вызывая окислительную модификацию. На этот случай в организме функционируют системы биорегенерации окисленного α -токоферола. Он вступает в реакции с аскорбиновой кислотой (витамином С), которая в большинстве случаев присутствует в организме в достаточно высоких концентрациях. В результате такой реакции образуется радикал витамина С – полувосстановленная или семидегидроаскорбиновая кислота, при взаимодействии которой с новой молекулой фенольного радикала α -токоферола образуется дегидроаскорбиновая кислота. Для дальнейшей регенерации аскорбиновой кислоты в организме находятся специализированные ферментные системы, осуществляющие данное восстановление. К ним относят митохондриальные и цитозольные ферменты: NADH- цитохром редуктаза, NADH- семидегидроаскорбат оксиредуктаза и GSH- дегидроаскорбат редуактаза. Существует еще один путь, поддерживающий антиоксидантный статус клетки – участие убихинона Q_{10} в регенерации окисленного α -токоферола. Его восстановленная форма является активным АО. Данный способ защиты с биологической точки зрения является наиболее целесообразным, потому что при нем не расходуется эссенциальный витамин Е, а потребляется синтезируемый в организме убихинон Q_{10} . Другой природный АО – провитамин А проявляет антиокислительные свойства *in vitro* и *in vivo*. Его антирадикальное воздействие отличается от аналогичного у α -токоферола тем, что при взаимодействии с активными липидными радикалами образуются

малоактивные радикалы в изопrenoидной цепи. Однако являясь полинасыщенным соединением, он может легко окисляться и выступать в качестве прооксиданта – индуктора свободнорадикальных реакций.

Третья ступень защиты. Препятствием накоплению вторичных радикалов, образующихся после разложения липопероксидов, является третья линия антиоксидантной защиты. Она представлена глутатионзависимыми ферментами – глутатионпероксидазами, глутатион – S- трансферазами и системами биорегенерации окисленного глутатиона. Глутатион является основным активным компонент редокс – буфера клетки, поддерживая характерную для нее восстановленную среду. Главная роль глутатиона заключается в восстановлении сульфгидридных (SH) групп ферментов при их окислении, в сохранении нативности и целостности клеточных мембран и в осуществлении различных мембранных процессов. Найдено 4 вида ферментов в семействе Se- содержащих GSH- пероксидаз. Они катализируют реакцию восстановления глутатионом нестойких органических гидропероксидов в стабильные оксикислоты. Окисленные фосфолипиды в плазме крови могут находиться только в составе циркулирующих липопротеинов, поэтому можно предположить, что основной функцией GSH- пероксидазы является защита ЛНП от окислительной модификации. Отдельные изоформы GSH- трансфераз могут восстанавливать органические гидропероксиды, в том числе гидропероксиды жирных кислот [2,6,14,48].

Показатели активности ПОЛ и АОЗ достаточно объективно характеризуют развитие и тяжесть патологического состояния [8].

Немаловажное значение в процессе реализации инфекционного процесса играют инициация свободнорадикального окисления и протективная роль системы АОЗ [24,38,73].

Дисбаланс в системе ПОЛ – АОС является одним из механизмов синдрома полиорганной недостаточности.

Изменение интенсивности ПОЛ и АОО имеет решающее значение в реализации механизмов старения организма [37,45,71].

В процессе течения хронических заболеваний наблюдается повышение уровня МДА в плазме крови и снижение уровня каталазы. Повышение активности процессов ПОЛ зависит от периода заболевания, клинического течения, степени тяжести патологического процесса, наличия сопутствующих заболеваний и осложнений. При легкой форме хронического заболевания наблюдается повышение активности АОО, при среднетяжелой и тяжелой – на фоне высокого уровня продуктов ПОЛ наблюдается дефицит активности антиоксидантной защиты организма [43].

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

2.1 Материалы исследований

Исследование влияния антиоксидантов на интенсивность перекисного окисления липидов проводится на модельной биологической системе желточных липопротеидов, представляющую собой суспензию липопротеидов желтка куриных яиц. Данная МБС имеет такие преимущества, как: доступность, стабильность при хранении, обладает высокой степенью окисляемости, выделение из нее липопротеидов осуществляется достаточно легко и удобно. МБС ЖЛП позволяет исследовать действие антиоксидантов различного происхождения на интенсивность ПОЛ [22,26]. Подобные исследования выявляют антиоксидантные свойства и могут свидетельствовать о перспективности продолжения поиска новых антиоксидантных препаратов.

2.2 Методы исследований

Суспензию ЖЛП получают путем гомогенизирования желтка куриных яиц, содержащих два типа белково-липидных компонентов, соответствующих по белковому и липидному составу липидам очень низкой плотности (ЛОНП) и липидам низкой плотности (ЛНП), в равном объеме фосфатного буфера (40мМ KH_2PO_4 , 105 мМ KCl , pH 7,45). Полученную суспензию перед использованием разводили в 25 раз тем же буфером. Суспензию можно хранить при 4°C в течении недели.

Анализ проводили следующим образом: к 1 мл суспензии ЖЛП добавляли по 1 мл исследуемого материала и 7 мл. фосфатного буфера. ПОЛ во всех случаях инициировали с помощью добавления 1 мл 25 мМ раствора FeSO_4 и раствора $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, которые готовили непосредственно перед использованием. Конечный объем пробы составлял 10 мл. Контрольная

проба исследуемых препаратов не содержала. В нулевую пробу добавляли только фосфатный буфер и Fe^{2+} и Cu^{2+} . Пробы инкубировали при 37°C в течении 15 минут при интенсивном перемешивании. Конечную скорость ПОЛ определяли по количеству накопленных в образце продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК). После инкубации отбирали по 2 мл из каждой пробы, приливали к ним по 1 мл 17,5% ТХУ и 1 мл 0,8% ТБК. Затем содержимое пробирок хорошо встряхивали, плотно закрывали пробкой и ставили в кипящую водяную баню на 10 минут, после чего сразу остужали в холодной воде. Содержимое пробирок помещали в центрифугу при 1000 g на 15-20 минут. После этого осторожно отбирали надосажок и измеряли оптическую плотность на СФ при длине волны 530 нм против воды. АОА рассчитывали по формуле:

$$\text{АОА}(\%) = (\text{OD}_1 - \text{OD}_2) / \text{OD}_1 \times 100\%,$$

где OD_1 - изменение оптической плотности пробы в отсутствии исследуемого вещества, OD_2 - изменение оптической плотности в присутствии исследуемого вещества.

В качестве исследуемых антиоксидантов используются такие препараты как Мексиприм раствор для внутривенного и внутримышечного введения 50 мг/мл, Кудесан форте раствор 6%, Кудесан форте раствор 3%.

2.2.1 Мексиприм

Мексиприм - антиоксидантный препарат, активное вещество – этилметилгидроксипиридина сукцинат (50 мг/мл). Данный препарат имеет широкий спектр фармакологической активности. Он повышает устойчивость организма к стрессу, проявляет анксиолитическое действие, которое не сопровождается миорелаксацией; обладает ноотропными свойствами, уменьшает и предупреждает нарушения процесса обучения и запоминания, возникающие при старении и различном воздействии патогенных факторов; оказывает противосудорожное действие; проявляет антиоксидантные и

антигипоксические свойства; улучшает концентрацию внимания и работоспособность; ослабляет токсическое воздействие алкоголя.

Мексиприм улучшает метаболизм тканей мозга, их кровоснабжение, оказывает улучшающее влияние на микроциркуляцию и реологические свойства крови, уменьшает агрегацию тромбоцитов. Стабилизирует мембранные структуры клеток крови (эритроцитов и тромбоцитов). Обладает гиполипидемическим действием, уменьшает содержание общего холестерина и ЛПНП.

Механизм действия препарата обусловлен его антиоксидантным и мембранопротекторным действием. Мексиприм ингибирует перекисное окисление липидов, повышает активность супероксидоксидазы, повышает показатели соотношения липид-белок, уменьшает вязкость мембраны, при этом увеличивая ее текучесть. Модулирует активность мембраносвязанных ферментов, рецепторных комплексов (бензодиазепинового, GABA, ацетилхолинового), что приводит к усилению их способности к связыванию с лигандами, способствует сохранению структурно-функциональной организации мембран, транспорта нейромедиаторов и улучшению синаптической передачи. Препарат повышает содержание дофамина в головном мозге. Вызывает усиление компенсаторной активации аэробного гликолиза и снижение степени угнетения окислительных процессов в цикле Кребса в условиях гипоксии с увеличением содержания АТФ и крeтинфосфата, активацию энергосинтезирующих функций митохондрий, стабилизацию клеточных мембран[19,32].

2.2.2 Кудесан Форте(раствор 3% и 6%)

Кудесан – препарат, содержащий в своем составе такие активные вещества, как убихинон (коэнзим Q₁₀) и токоферола ацетат(витамин E). Препарат выпускается в виде 3% и 6% раствора. Содержание действующих

веществ в 3% растворе: коэнзим Q10- 30 мг, витамин Е- 6,8 мг; в 6% растворе: коэнзим Q10- 60 мг, витамин Е – 6,8 мг.

Кудесан нормализует метаболизм миокарда, уменьшает гипоксию тканей [21].

Витамин Е - антиоксидантное средство, защищающее различные эндогенные вещества организма от окисления. Тормозит процессы ПОЛ, активирующиеся при многих заболеваниях. Принимает участие в процессах тканевого дыхания, биосинтезе гема и белков, обмене жиров и углеводов, пролиферации клеток и т.д. При недостатке витамина Е развиваются дегенеративные изменения в мышцах, повышается проницаемость и ломкость капилляров, перерождается эпителий семенных канальцев и яичек, отмечаются дегенеративные процессы в нервной ткани и гепатоцитах. Дефицит витамина Е может вызывать гемолитическую желтуху новорожденных, синдром мальабсорбции, стеаторею. Витамин Е всасывается в кишечнике в присутствии жира и желчных кислот при помощи пассивной диффузии. Транспортируется β -липопротеидами крови, максимальное содержание достигается к 4-му часу после приема. Выводится с калом, с мочой выводятся конъюгаты и токофероновая кислота [40].

Убидекаренон (коэнзим Q₁₀, убихинон) - природное вещество, являющееся витаминоподобным коферментом. Убидекаренон является эндогенным субстратом, принимающим непосредственное участие в переносе электронов в транспортной цепочке окислительно-восстановительных процессов, в процессе обмена энергии, в реакции окислительного фосфорилирования в дыхательной цепи митохондрий клеток, участвует в процессах клеточного дыхания. «Кудесан» оказывает клинически значимое антиоксидантное действие, защищает липиды клеточных мембран от перекисного окисления, сокращает зону повреждения миокарда в условиях ишемии и реперфузии. За счет эндогенного синтеза 100% удовлетворение потребности организма в

коэнзиме Q_{10} происходит только до 20-летнего возраста. Концентрация коэнзима Q_{10} снижается у пациентов пожилого возраста, а также при различных заболеваниях как у взрослых, так и у детей.

Капли «Кудесан Форте» назначают в комплексной терапии заболеваний сердечно-сосудистой системы: взрослым- при ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности, артериальной гипертензии, аритмии; детям с 1 года- при аритмии, астеническом синдроме, дилатационной кардиомиопатии, врожденной миопатии, а также при профилактике недостаточности коэнзима Q_{10} и повышенных физических нагрузках [21,57].

Статистический анализ полученных результатов проводили с помощью t-критерия Стьюдента (MS Excel).

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты отражают таблицы 1-4 и иллюстрируют рисунки 1-7 ($p < 0,05$).

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

Таблица 1.

Значения показателя антиоксидантной активности (АОА) в модельной биологической системе без введения в нее антиоксидантов.

Спонтанное окисление	Fe^{2+} -индуцированное окисление	Cu^{2+} -индуцированное окисление
0,034	0,250	0,247
0,040	0,249	0,250
0,037	0,250	0,248
0,037	0,249	0,249
0,039	0,248	0,248
0,035	0,250	0,248
M		
0,037	0,250	0,248
m		
0,0027	0,00058	0,0015

Анализ таблицы 1 свидетельствует о том, что модельная биологическая система отвечала повышением показателя антиоксидантной активности при Fe^{2+} -индуцированном окислении и Cu^{2+} -индуцированном окислении, по сравнению со спонтанным свободно-радикальным окислением, в 6,8 и 6,7

раз соответственно. Это значит, что данная модельная биологическая система может использоваться для постановки эксперимента.

В таблицах 2 и 3 отражены значения показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему антиоксидантов (Кудесан 3%, Кудесан 6%, Мексиприм) в условиях спонтанного и Fe^{2+} - индуцированного свободно- радикального окисления соответственно.

Таблица 2.

Значения показателя антиоксидантной активности (АОА)при введении в модельную биологическую систему антиоксидантов (Кудесан 3%, Кудесан 6%, Мексиприм), в условиях спонтанного свободно-радикального окисления.

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Спонтанное окисление
Кудесан 3%	15,361
	16,770
	13,950
	16,773
	13,946
	15,362
$M \pm m$	$15,36 \pm 1,411$
Кудесан 6%	25,838
	22,929
	21,003
	22,930
	21,009
	25,830

Таблица 2 (продолжение).

M±m	23,257±2,434
Мексиприм	36,520
	36,990
	37,321
	36,515
	36,986
	37,325
M±m	36,944±0,402

Анализ данной таблицы свидетельствует о присутствии антиоксидантной активности в вышеперечисленных препаратах, модельная биологическая система адекватно реагирует на введение антиоксидантов (рисунок 1).

Анализ рисунка 1 свидетельствует о наличии у данных препаратов антиоксидантной активности, которая ярко выражена в случае с препаратом «Мексиприм». Его показатель антиоксидантной активности практически в 2 раза выше, чем у препаратов Кудесан 3% и Кудесан 6%. Это еще раз доказывает адекватность модельной биологической системы желточных липопропротеидов для применения ее в качестве модельной тест – системы.

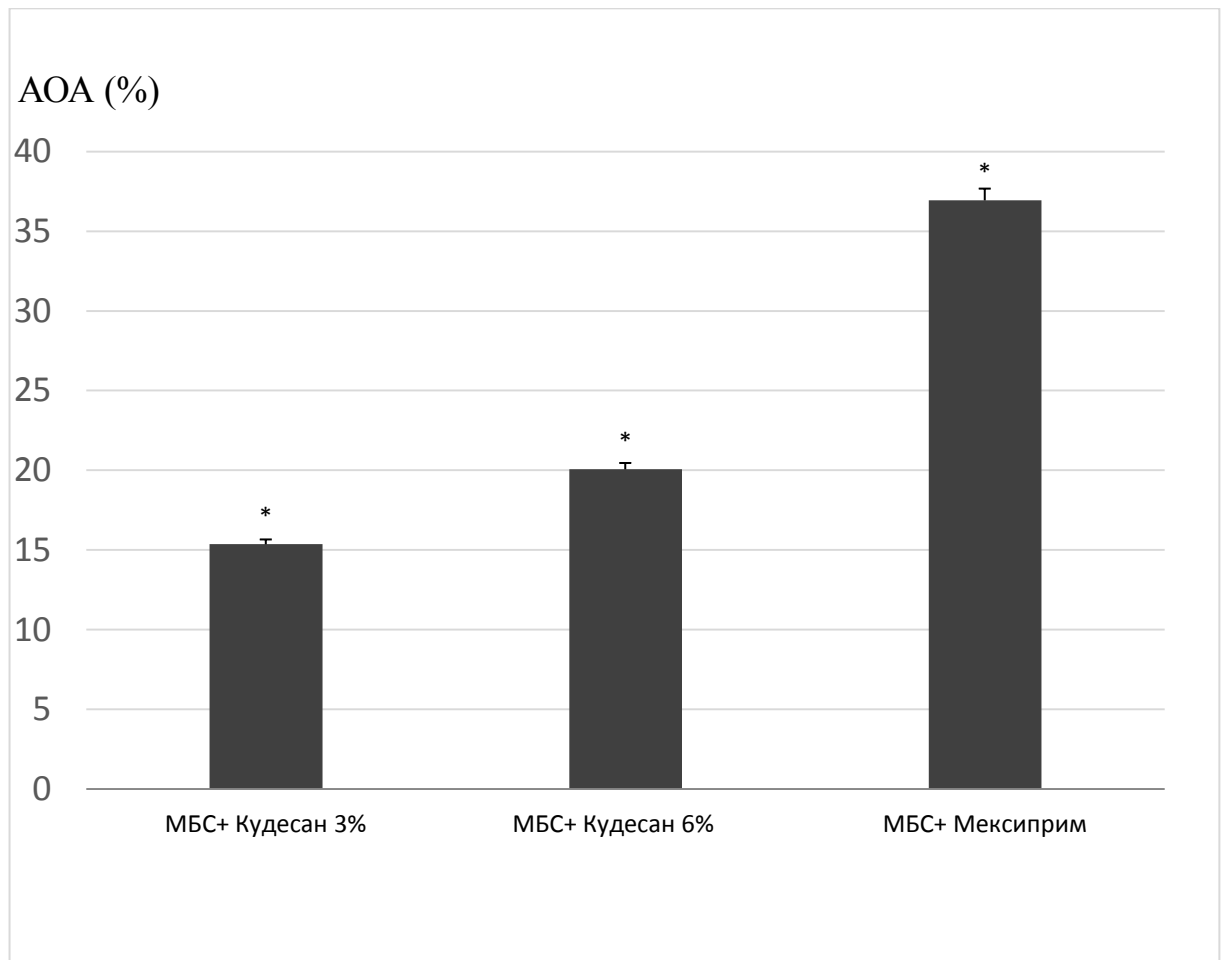


*Рис. 1. Анализ показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов Кудесан 3%, Кудесан 6% и Мексиприм в условиях спонтанного окисления ($M \pm m, n=6$). Здесь: *- $p < 0,05$ относительно чистой МБС.*

Таблица 3.

Значения показателя антиоксидантной активности(АОА) при введении в модельную биологическую систему антиоксидантов (Кудесан 3%, Кудесан 6%, Мексиприм), в условиях Fe^{2+} - индуцированного свободно-радикального окисления.

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Fe^{2+} -индуцированное окисление
Кудесан 3%	45,298
	38,344
	42,946
	38,350
	45,300
	42,932
M±m	42,006±3,591
Кудесан 6%	44,514
	43,574
	44,984
	44,570
	44,518
	44,977
M±m	44,357±0,718

Таблица 3(продолжение).

Мексиприм	53,919
	51,567
	52,978
	52,975
	51,562
	53,898
M±m	52,821±1,183

Содержание таблицы 3 наглядно проиллюстрировано на рисунке 2, где проанализирована антиоксидантная активность вышеперечисленных препаратов в условиях Fe^{2+} -индуцированного свободно-радикального окисления.

Проанализировав рисунок 2, можно сделать вывод, что в данном случае наблюдается проявление антиоксидантной активности при Fe^{2+} -индуцированном окислении. Препарат Мексиприм проявляет повышенные антиоксидантные свойства. Значения показателя АОА препарате Мексиприм примерно в 1,2 раза выше, чем у препарата Кудесан 6% и в 1,3 раза выше, чем у препарата Кудесан 3%.

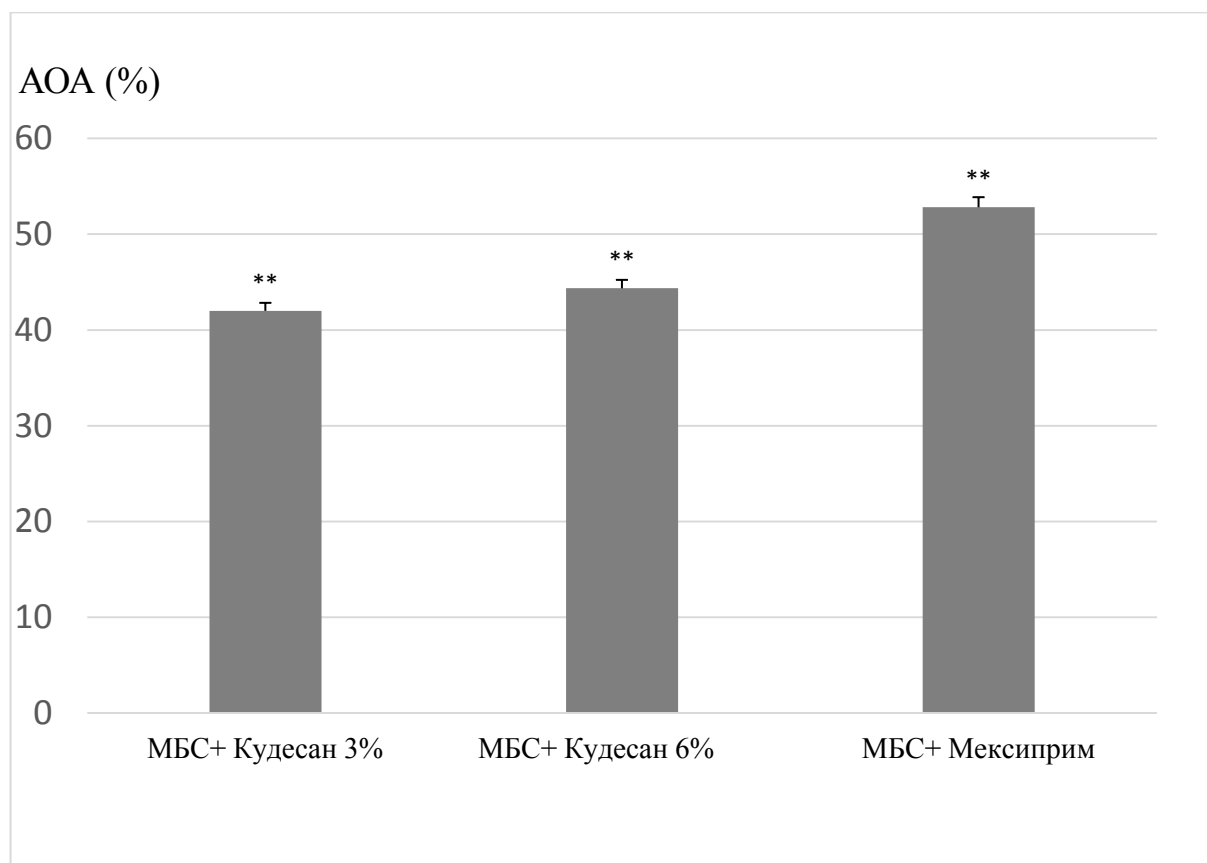


*Рис. 2. Анализ показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов Кудесан 3%, Кудесан 6% и Мексиприм в условиях Fe^{2+} -индуцированного свободно-радикального окисления ($M \pm m$, $n=6$). Здесь: ** - $p < 0,05$ относительно МБС + Fe^{2+} .*

В таблицах 2 и 4 отражены значения показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему антиоксидантов (Кудесан 3%, Кудесан 6%, Мексиприм) в условиях спонтанного и Cu^{2+} - индуцированного свободнорадикального окисления соответственно.

Таблица 4.

Значения показателя антиоксидантной активности(АОА) при введении в модельную биологическую систему антиоксидантов (Кудесан 3%, Кудесан 6%, Мексиприм) в условиях Cu^{2+} - индуцированного свободно-радикального окисления.

Антиоксиданты, вводимые в модельную биологическую систему	Cu^{2+} -индуцированное окисление
Кудесан 3%	48,896
	46,057
	47,949
	46,055
	48,898
	47,947
$M \pm m$	$47,634 \pm 1,446$
Кудесан 6%	48,423
	52,681
	49,369
	52,680
	49,373
	48,425
$M \pm m$	$50,158 \pm 2,236$
Мексиприм	55,520
	55,994
	53,628
	55,990
	53,624
	55,515
$M \pm m$	$55,047 \pm 1,519$

Анализируя таблицу 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). Показатели антиоксидантной активности в условиях Cu^{2+} -индуцированного окисления проиллюстрированы на рисунке 3.

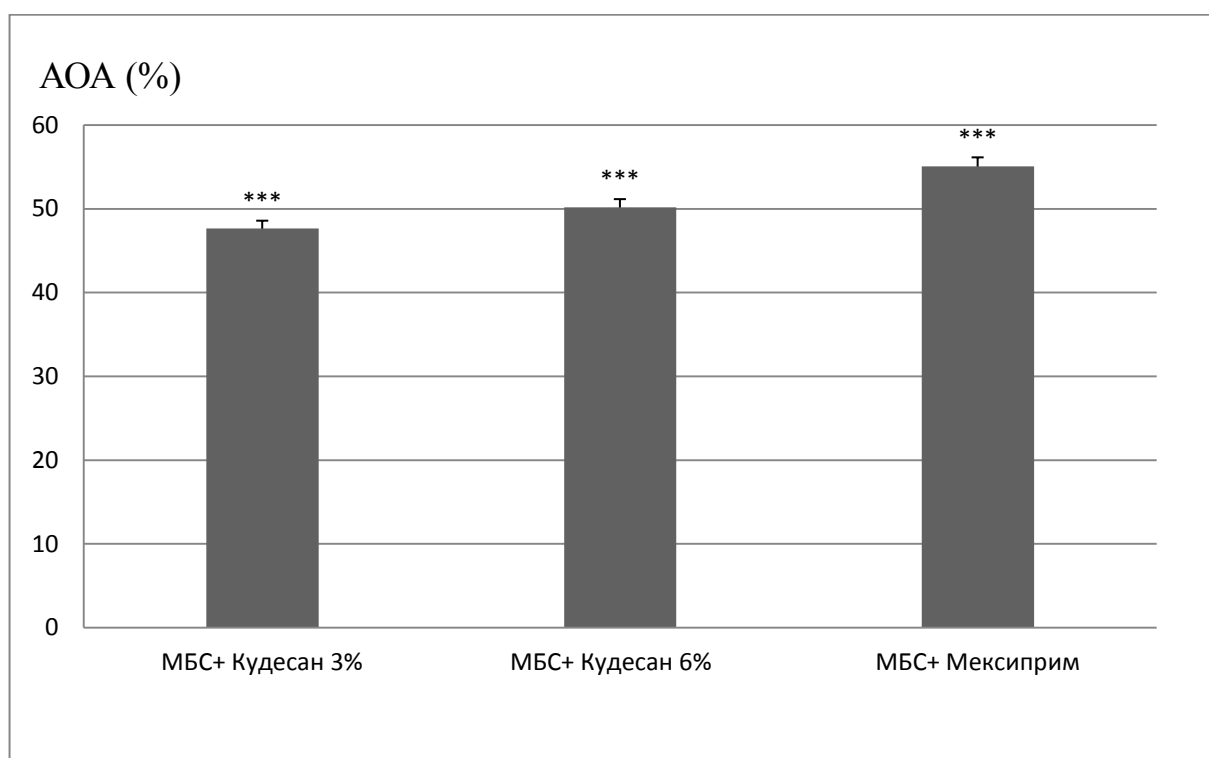


Рис. 3. Анализ показателя антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов Кудесан 3%, Кудесан 6% и Мексиприм в условиях Cu^{2+} -индуцированного свободно-радикального окисления ($M \pm m$, $n=6$). Здесь: ***- $p < 0,05$ относительно МБС + Cu^{2+} .

Наивысшим показателем АОА обладает препарат Мексиприм, как и в случае с Fe^{2+} -индуцированным свободнорадикальным окислением. Значения показателя АОА препарата Мексиприм в 1,1 раз выше, чем у препарата Кудесан 6% и в 1,2 раза выше, чем у препарата Кудесан 3%.

На рисунке 4 проиллюстрирован сравнительный анализ степени антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов Кудесан 3%, Кудесан 6% и Мексиприм в условиях спонтанного, Fe^{2+} - и Cu^{2+} -индуцированного окисления.

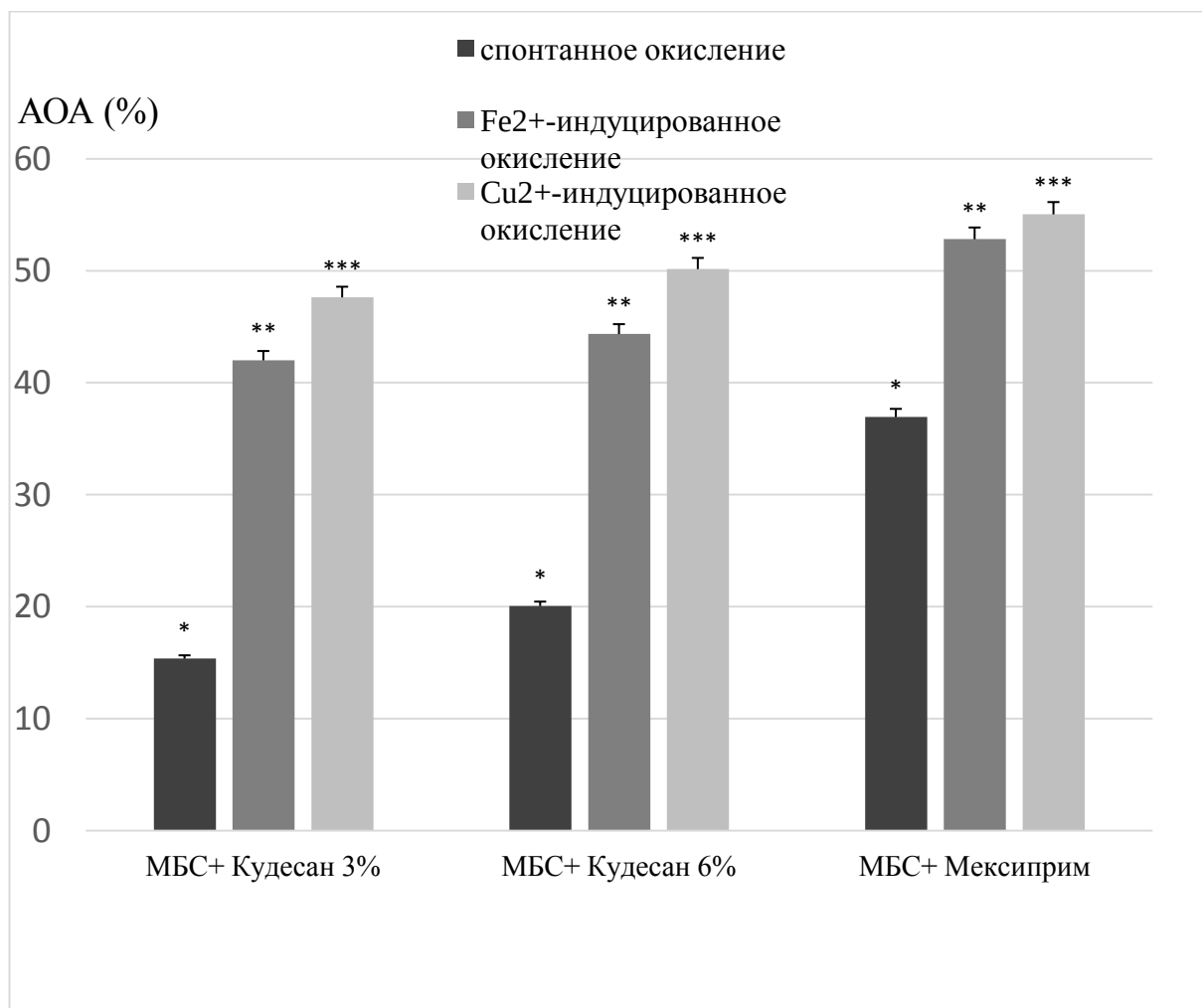


Рис. 4. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности при введении в модельную биологическую систему препаратов Кудесан 3%, Кудесан 6% и Мексиприм в условиях спонтанного, Fe^{2+} - и Cu^{2+} -индуцированного свободно-радикального окисления ($M \pm m, n=6$). Здесь: *- $p < 0,05$ относительно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

Полученные данные позволяют сделать вывод, что все три исследуемых препарата обладают антиоксидантной активностью, которая в

большей степени проявляется у препарата Мексиприм, так как во всех трех рассмотренных способах окисления значения антиоксидантной активности у данного препарата выше, чем у препаратов Кудесан 3% и Кудесан 6%. Антиоксидантная активность препарата Кудесан 3% выражена немного меньше, чем у препарата Кудесан 6%. В среднем она выше в 1,2 раза. Различия в показателях связано с разницей в концентрациях действующего вещества в препаратах.

В рамках данного исследования возможны анализ и оценка всех трех условий окисления, который может продемонстрировать разницу между спонтанным окислением, Fe^{2+} - и Cu^{2+} -индуцированным свободно-радикальным окислением. На рисунках 5, 6 и 7 продемонстрированы влияния используемых в данной работе условий свободно-радикального окисления на антиоксидантную активность каждого препарата, вводимого в модельную биологическую систему.

При анализе рисунка 5 стоит отметить, что степень выраженности антиоксидантной активности препарата Кудесан 3% в условиях спонтанного окисления ниже, чем в двух других случаях. Это доказывает, что в присутствии Fe^{2+} и Cu^{2+} увеличивается показатель АО защиты препарата.

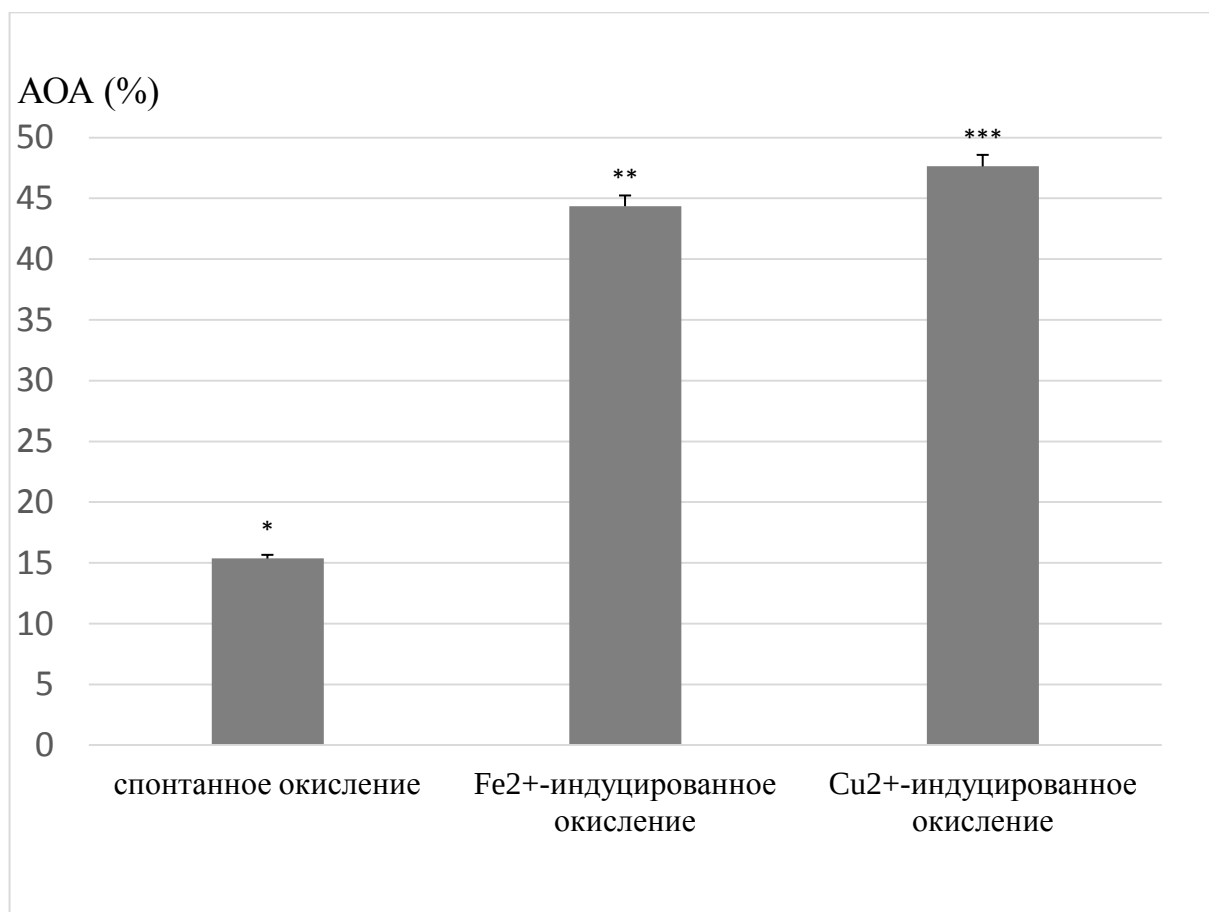


Рис. 5. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности препарата Кудесан 3% в условиях спонтанного, Fe²⁺- и Cu²⁺-индуцированного свободно – радикального окисления (M±m, n=6). Здесь: *- p<0,05 относительно чистой МБС, ** - p<0,05 относительно МБС + Fe²⁺, *** - p<0,05 относительно МБС + Cu²⁺.

На рисунке 6 аналогично представлен сравнительный анализ препарата Кудесан 6% в условиях спонтанного, Fe²⁺- и Cu²⁺-индуцированного свободнорадикального окисления. Как и в предыдущем случае, можно пронаблюдать в целом выраженное увеличение степени антиоксидантной активности при Fe²⁺- и Cu²⁺- свободнорадикальном окислении по сравнению со спонтанным окислением.

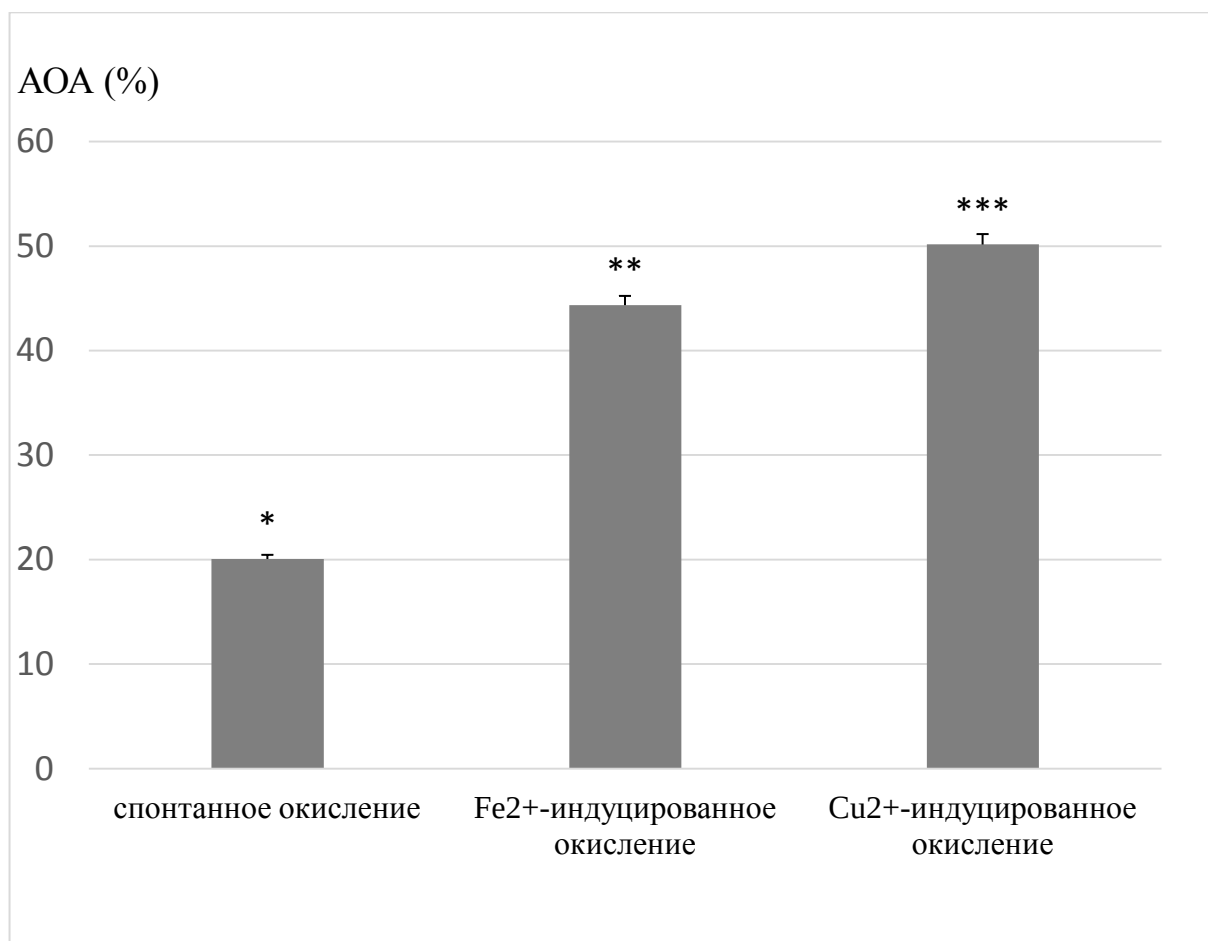


Рис. 6. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности препарата Кудесан 6% в условиях спонтанного, Fe²⁺- и Cu²⁺-индуцированного свободно – радикального окисления ($M \pm m, n=6$). Здесь: *- $p < 0,05$ относительно чистой МБС, ** - $p < 0,05$ относительно МБС + Fe²⁺, *** - $p < 0,05$ относительно МБС + Cu²⁺.

На рисунке 7 проиллюстрирован аналогичный сравнительный анализ антиоксидантной активности в случае с препаратом Мексиприм. Здесь так же, как и в случае с двумя другими препаратами наблюдается повышение показателя АОА при Fe²⁺ и Cu²⁺-свободнорадикальном окислении по сравнению со спонтанным окислением.

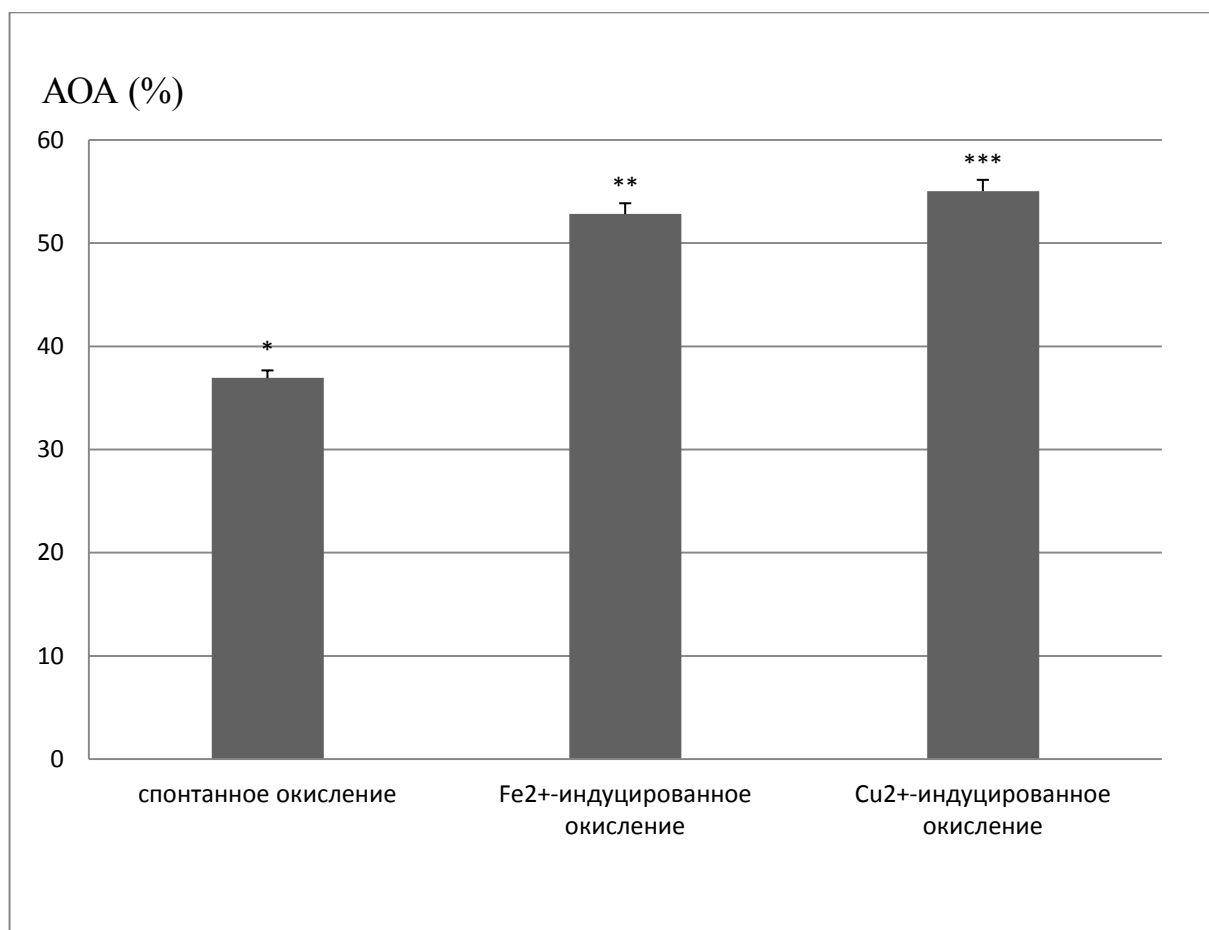


*Рис. 7. Сравнительный анализ степени антиоксидантной активности препарата Мексиприм в условиях спонтанного, Fe^{2+} - и Cu^{2+} -индуцированного свободно – радикального окисления ($M \pm m, n=6$). Здесь: * - $p < 0,05$ относительно чистой МБС, ** - $p < 0,05$ относительно МБС + Fe^{2+} , *** - $p <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

Таким образом, можно сделать вывод, что препараты, вводимые в модельную биологическую систему желточных липопротеидов, обладают выраженной антиоксидантной активностью. Наивысшей активностью обладает препарат Мексиприм, во всех трех случаях препарат показал высокий показатель антиоксидантной активности по сравнению с остальными. Следующим препаратом по степени выраженности АОА является Кудесан 6%. Наименьшим показателем антиоксидантной активности из 3 исследованных препаратов обладает Кудесан 3%. Низкий

показатель связан с наименьшей концентрацией активного вещества в препарате.

Анализируя три 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. Полученная в работе разница показателей антиоксидантной активности препаратов в случае Fe^{2+} - и Cu^{2+} -индуцированных свободнорадикальных окислений незначительна. Однако, при Cu^{2+} -индуцированном окислении препараты обладают самым высоким показателем антиоксидантной защиты. В среднем значения АОА при Cu^{2+} -индуцированном окислении в 1,2 раза выше, чем при Fe^{2+} -индуцированном свободнорадикальном окислении.

ВЫВОДЫ

1. Изучен показатель антиоксидантной активности модельной биологической системы, повышающийся при Fe^{2+} -индуцированном окислении, по сравнению со спонтанным окислением, в 6,8 раз ($p < 0,05$) и Cu^{2+} -индуцированном окислении – в 6,7 раз ($p < 0,05$) соответственно.

2. Исследован показатель антиоксидантной активности модельной биологической системы, при введении в нее антиоксидантов в условиях спонтанного, Fe^{2+} -индуцированного и Cu^{2+} -индуцированного свободно – радикального окисления, значения которого были выше во всех трех случаях у препарата «Мексиприм». Следующим по степени антиоксидантной активности является Кудесан 6%, последним – Кудесан 3%.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абакумова, Т. В. Система «Перекисное окисление липидов – антиоксидантов» в организме – опухоленосителе в клинике и эксперименте/ Т. В. Абакумова, Т. П. Генинг, И. И. Антонеева, Д. Р. Арсланова, С. О. Генинг, Н. В. Емелькин // Фундаментальные исследования. – 2011. – №11. – С. 13-16.
2. Аджиев, Д.Д. Исследование продуктов перекисного окисления липидов, неферментативной и ферментативной антиоксидантной системы в возрастной динамике самцов кроликов/ Д.Д. Аджиев// Вестник ВОГиС. – 2010. – Т.14, №4. – С.674.
3. Арчаков, А.И. Успехи биологической химии/А. И. Арчаков / М.: Наука, 1971. – 136 с.
4. Бардымова, Т. П. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система у больных сахарным диабетом 2 типа / Т. П. Бардымова, Л. И. Колесникова, В. А. Петрова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН.– 2005. – №6(44). – С.11-14.
5. Белая, О. И. Антиокислительный статус и процессы перекисного окисления липидов у больных стабильными формами ишемической болезни сердца с дислипидемией/ О. И. Белая, В. А. Сулимов, И. Г. Фомина, З. В. Куроптева, Л. М. Байдер // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2006. – №5(5).– С.21-26.
6. Ваваев, А. В. Ферментные антиоксиданты на пути к практической медицине / А. В. Ваваев, А. В. Максименко // Кардиологический вестник. – 2009. – Т.IX(XVI), №2. – С.66-70.
7. Виноградова, И. С. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная активность у детей с начальной стадией желчекаменной болезни/ И. С. Виноградова, С. И. Мандров, Л. А. Жданова, А. Э. Акайзина, Э. С. Акайзин, И. В. Миленина, И. К. Томилова // Медицина и образование в Сибири. – 2013. – №6. – С.73.

8. Винокурова, Е. А. Антиоксидантная активность и перекисное окисление липидов при различных акушерско- гинекологических операциях/ Е. А. Винокурова, Т. Д. Журавлева, Н. С. Киянюк, Н. Н. Яскевич, Н. Б. Чабанова, А. Л. Чернова, Е. А. Солдатова // Медицинская наука и образование Урала. – 2012. – №3. – С.44-48.

9. Владимиров, Ю. А. Перекисное окисление липидов в биомембранах/ Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков / М.: Москва, 2003. – 230-272 с.

10. Волчегорский, И. А. Динамика состояния системы перекисное окисление липидов – антиоксидантная защита при аллоксановом диабете у крыс/ И. А. Волчегорский, Л. М. Рассохина, И. Ю. Мирошниченко// Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т.155, №1. – С. 31-35.

11. Воробьев, В. И. Перекисное окисление липидов, антиоксидантная система и активность гормонов в крови голубей / В. И. Воробьев, Д. В. Воробьев, А. С. Костин // Новая наука: современное состояние и пути развития. – 2016. – №4-2. – С.6-10.

12. Гвозденко, Т. А. Взаимосвязь параметров иммунной и прооксидантно – антиоксидантной систем при физиологическом старении / Т. А. Гвозденко, О. Ю. Кытикова, Т. И. Виткина, Л. В. Веремчук // Клиническая геронтология. – 2014. – №3-4. – С.17-20.

13. Гвозденко, Т. А. Состояние иммунитета и системы «Перекисное окисление липидов – Антиоксидантная защита» при прогрессировании хронической обструктивной болезни лёгки / Т. А. Гвозденко, П. В. Борщев, Е. М. Иванов, Д. В. Данильчук, Л. В. Веремчук // Бюллетень СО РАМН. – 2012. – Т.32, №3. – С.68- 75.

14. Герасименко, М. Н. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантной системы в эритроцитах больных раком почки/ М. Н. Герасименко, Н. М. Титова, Р. А. Зуков, Ю.А. Дыхно, Е. С. Перетока//

Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2012. – Т. 154, №12. – С.692-694.

15. Гурьянова, В. А. Перекисное окисление липидов при поражении печени ионизирующей радиацией/ В. А. Гурьянова, Н. Б. Тарасова// Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2013. – Т.213, №5. – С.76-80.

16. Давыдова, Е. В. Роль свободно – радикальных процессов в формировании профессиональной патологии / Е. В. Давыдова, Т. А. Соколова, Э. А. Сафронова // Научный альманах. – 2016. – №2-3(16). – С. 32-35.

17. Демидов, Д. В. Динамика перекисного окисления липидов под воздействием препаратов антиоксидантного типа в условиях экспериментального опухолевого роста / Д. В. Демидов, Н. А.Плотникова// Биомедицинские исследования. –2011. – №4. – С.14-17.

18. Денисова, Е. В. Моделирование лабораторных исследований перекисного окисления липидов/ Е. В. Денисова, С. Ф. Андрусенко// Современная медицина: актуальные вопросы. – 2014. – №28. – С.137- 143.

19. Долгова, И.Н. Применение Мексиприма у больных с хронической ишемией мозга/ И.Н. Долгова, С.М.Карпов, А.Б.Минаев, И.А.Вышлова, Н.В. Чигрина/ /Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – №1(156).– С. 35-38.

20. Дуанбекова, Г. Б. Исследования состояния окислительного метаболизма организма спортсменов / Г. Б. Дуанбекова, Б. А. Сарсекеева, М. Ж. Карынбаева, Е. М. Алимжанов// Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. –2012. – №2. – С.259-261.

21. Житникова, Л.М. Коэнзим Q10(Кудесан) в профилактике и лечении артериальной гипертензии/ Л.М. Житникова//Артериальная гипертензия. – 2011. – Т.17, №1. – С.54-59.

22. Зайцев, В. Г. Модельные системы перекисного окисления липидов и их применение для оценки антиоксидантного действия

лекарственных препаратов: диссертация на соискание учёной степени кандидата биологических наук/ В.Г. Зайцев. – Волгоград, 2001. – 29 с.

23. Звенигородская, Л. А. Перекисное окисление липидов и активность липопротеин-ассоциированной фосфолипазы А2 в сыворотке крови у больных неалкогольной жировой болезнью печени / Л. А. Звенигородская, Т. В. Нилова, А. В. Петраков // Поликлиника. – 2015. – №5. – С.48-52.

24. Ишутина, Н.А. Интенсивность процессов перекисного окисления липидов и состояние антиоксидантной системы в крови пуповины новорожденных от матерей с цитомегаловирусной инфекцией/ Н.А. Ишутина, Н.Н. Дорофиев// Успехи современного естествознания. – 2014. – №9. – С.11.

25. Кашафеева, А. А. Закономерности изменений параметров системы «Перекисное окисление липидов – антиоксиданты» брюшины после воздействия различных факторов в эксперименте / А. А. Кашафеева, С. Г. Гаймоленко, Б. С. Хышиктуев// Тихоокеанский медицинский журнал. – 2012.–№4. – С. 45-49.

26. Клебанов, Г. И. Оценка антиокислительной активности плазмы крови с применением желточных липопротеидов. / Г. И. Клебанов, И. В. Бабенкова, О. С. Комаров, Ю. А. Владимиров // Клиническая лабораторная диагностика. – 1988. – №5. – С.59-62.

27. Козлов, Ю. П. Перекисное окисление липидов (ПОЛ) как основа свободно – радикальных реакций в клетках организма / Ю. П. Козлов // Альманах мировой науки. – 2016. – №2-1(5). – С.18-20.

28. Костина, О. В. Экспериментальная оценка влияния активных форм кислорода и азота на перекисное окисление липидов и антиоксидантный потенциал / О. В. Костина // Международный журнал экспериментального образования. – 2014. – №5. – С.13-14.

29. Котельникова, С. В. Перекисное окисление липидов в условиях развития кадмиевой интоксикации у самцов и самок белых крыс / С. В.

Котельникова, О. И. Новакова, Г. А. Шараева, Н. Р. Муратова // Естественные науки. – 2012. – №1(38). – С.181-184.

30. Кривигина, Е. В. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система при постгастрорезекционных синдромах / Е. В. Кривигина, Г. Ф. Жигаев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – №4(80). – С.60-61.

31. Курганова, Л.Н. Перекисное окисление липидов–возможный компонент быстрой реакции на стресс/ Л.Н. Курганова// Вестник Нижегородского университета им. Н.И.Лобачевского. – 2001. – №3. – С.74-76.

32. Куцемелов, И.Б. Применение современных антиоксидантов(Мексиприм) в комплексном лечении больных с хронической цереброваскулярной недостаточностью/ И.Б. Куцемелов, В.В. Кушнарева, В.В. Ефремов, А.В.Ерофеева// Клиника неврологии и нейрохирургии РостГМУ. – 2012. – Т.20, №10. – С.509-513.

33. Мажитова, М. В. Возрастные и половые особенности свободнорадикальных процессов и антиоксидантной защиты плазмы крови белых крыс / М. В. Мажитова, Д. Д. Теплый // Естественные науки. – 2010. – №1(30). – С.79-85.

34. Маханова, Р. С. К вопросу изучения перекисного окисления липидов/ Р. С. Маханова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – Т.1, №29-1. – С.231-234.

35. Мельник, А.А. Нарушение липидного обмена и его коррекция при хронической болезни почек/ А.А.Мельник//Почки. – 2016. –№2(16). – С.85-95.

36. Меринова, Н. И. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная система в патогенезе хронического панкреатита / Н. И. Меринова, Н. М. Козлова, Л. С. Колесниченко // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – №3. – С.17-20.

37. Мещанинов, В. Н. Влияние нейромедиаторов на перекисное окисление липидов при иммобилизованном стресс- воздействии у крыс разного возраста/ В. Н. Мещанинов, Щербаков Д. Л. // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т.96, №5. – С.843- 849.

38. Нагоев, Б. С. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита организма у больных ангиной / Б. С. Нагоев, М. Х. Нагоева // Вестник новых медицинских технологий. –2008. – Т.XV, №2. – С.128-129.

39. Николаев, С. М. Свободнорадикальное окисление и скрининг антиоксидантов, адаптогенов с использованием биотест – систем / С. М. Николаев, Л. Н. Шантанова, А. Г. Мондодоев, А. О. Занданов, С.В. Лемза, С. А. Чукаев // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – №2(72). – С.196-200.

40. 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.

41. Панин, Л.Е.Обмен липопротеинов и атеросклероз/ Л.Е.Панин// Бюллетень СО РАМН. – 2006. – №2(120). – С.15-22.

42. Пащенко, И. Г. Состояние системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты при заболевании органов дыхания / И. Г. Пащенко, М. С. Камнев, Н. Н. Пащенко, Н. А. Цимбал, М. В. Марковцева, И. Г. Сударкина // Ульяновский медико- биологический журнал. – 2011. – №4. – С.32-43.

43. Плахтий, Л. Я. Перекисное окисление липидов и антиоксидантная защита у больных хроническим вирусным гепатитом С / Л. Я. Плахтий, Б. С. Нагоев, Б. И. Отараева, А. К. Тадеева, А.Ч.Цховребов// Материалы конференции «Успехи современного естествознания». – 2010. – №9. – С. 141-143.

44. Почепень, О. Н. Перекисное окисление липидов и окислительный стресс у пациентов с тяжелой термической травмой / О. Н. Почепень // Здравоохранение. –2011. – №1. – С.19- 23.

45. Прорубщикова, М. Ю. Состояние перекисного окисления липидов у женщин, проходящих процедуру экстракорпорального оплодотворения / М. Ю. Прорубщикова, Л. И. Колесникова, Л. В. Сутурина // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – №5(81). – С.106-108.
46. Рубцов, Г.К. Модельная биологическая система желточных липопротеидов: параметры инициированной окислительной модификации белков в пуле молекул средней массы / Г.К. Рубцов, Н.В. Безручко//Вестник ТвГУ. Серия «Биология и экология». – 2014. – №2. – С.30-37.
47. Рукавишникова, С. А. Перекисное окисление и уровень атерогенности липидов у лиц пожилого возраста / С. А. Рукавишникова, Т. А. Ахмедов, А. В. Арутюнян, Г. А. Рыжак // Успехи геронтологии. – 2012. – Т.25, №3. – С. 490-492.
48. Рязанцева, Л.Т. Ферменты- антиоксиданты: структурно-функциональные свойства и роль регулирования метаболических процессов/ Л.Т. Рязанцева// Вестник воронежского государственного технического университета. – 2012. – №2. – С.126-129.
49. Сазонова, В. В. Процесс перекисного окисления липидов в организме служебных собак / В. В. Сазонова, Ю. А. Котова // Международный журнал экспериментального образования. – 2014. – №5. – С.171.
50. Сафонова, О. А. Влияние цитрата на оксидативный статус тканей крыс при экспериментальном токсическом гепатите / О. А. Сафонова, Т. Н. Попова, Л. Саиди // Биомедицинская химия. – 2010. – Т.56, №4. – С.490-498.
51. Северин, Е. С. Биохимия / Е. С. Северин /М.: ГЭОТАР- Медиа, 2003. – 430-431 с.
52. Сериков, В.С. Влияние мелатонина на перекисное окисление липидов и активность антиоксидантных ферментов в крови и печени крыс при многократных стрессорных воздействиях/ В.С.Сериков, Ю.Д. Ляшев// Российский физиологический журнал им.И.М.Сеченова. – 2013. – №11. – С.1295.

53. Смолянинова, Ю. В. Изменение перекисного окисления липидов–антиоксидантной защиты у пациентов с синдромом абструктивного апноэ сна/ Ю. В. Смолянинова, М. А. Даренская, И. М. Мадаева, В. А. Петрова, Л. И. Колесникова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – №5(51). – С.169-172.

54. Солин, А.В. Перекисное окисление липидов при иммобилизационном стрессе различной продолжительности/ А.В.Солин, Ю.Д.Ляшев//Российский физиологический журнал им. И.М.Сеченова. – 2013. – №6. – С.751-752.

55. Трегубова, Н. В. Возрастные изменения прооксидантно – антиоксидантного баланса при оксидативном стрессе / Н. В. Трегубова, И. С. Исмаилов // Ежеквартальный научно- практический журнал «Вестник АПК Ставрополя». – 2012. – №3(7). – С.142- 148.

56. Тушина, Н. В. Антиоксидантная система и перекисное окисление липидов в крови пациентов с косметическим удлинением костей голени по Илизарову / Н. В. Тушина, М. В. Стогов, К. И. Новиков // Успехи современного естествознания. – 2015. – №4. – С.78-80.

57. Тюкалова, Л.И. Оценка эффективности препарата Кудесан у больных гипертонической болезнью на фоне сахарного диабета 2-го типа/ Л.И. Тюкалова, Н.П. Гарганеева, М.А. Лукьянова, Ю.А. Рахматуллина// Сибирский медицинский журнал(г.Томск). – 2013. –Т.28, №1. – С.93-96.

58. Узбекиов, М. Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение III / М. Г. Узбекиов // Социальная и клиническая психиатрия. – 2016. – Т.26, №2. – С.91-96.

59. Узбекиов, М. Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантные системы при психических заболеваниях. Сообщение II / М. Г. Узбекиов // Социальная и клиническая психиатрия. – 2015. – Т.25, №4. – С.92-101.

60. Чепурненко, С. А. Липопротеиды и модифицированные липопротеиды у юношей с первичным пролапсом митрального клапана / С.А. Чепурненко // Кубанский научный медицинский вестник. – 2009. – №5(110). – С.141-142.
61. Черкесова, Д. У. Сравнительное изучение показателей окислительно – антиоксидантной системы при старении и наркомании / Д. У. Черкесова, А. И. Рабаданова // Естественные науки. – 2012. – №1(38). – С.209-213.
62. Akram, N. Ascorbic Acid-A Potential Oxidant Scavenger and Its Role in Plant Development and Abiotic Stress Tolerance/ N. Akram, F. Shafiq, M. Ashraf// Front Plant Sci. – 2016. – Vol.15. – P.23-46.
63. Alamdari, D. Prooxidant-antioxidant balance and antioxidant properties of Thuja orientalis L: a potential therapeutic approach for diabetes mellitus/ D. Alamdari, M. Aghasizadeh –Sharbaf, A. Avan// Curr Mol Pharmacol.- 2017. – Vol.3. – P.54-58.
64. Chai, L. Histopathological changes and lipid metabolism in the liver of Bufo gargarizans tadpoles exposed to Triclosan/ L.Chai, A. Chen, P.Luo// Chemosphere. – 2016. – Vol.17. – P.311-317.
65. Chatterjee, M. Regulation of oxidized platelet lipidome: implications for coronary artery disease/ M. Chatterjee, D. Rath, J. Schlotterbeck, J. Rheinlaender, B. Walker- Allgaier, N. Alnaggar// Bull Exp Biol Med. – 2017. – Vol.42. – P.524-535.
66. Crouzin, N. Alpha-tocopherol-mediated long-lasting protection against oxidative damage involves an attenuation of calcium entry through TRPlike channels in cultured hippocampal neurons/N. Crouzin, M.C. de Jesus Ferreira// Free Radic. Biol. Med. –2007. – Vol.42(9). – P.1326-1337.
67. Emanuel, N. M. Kinetics and free-radical mechanisms of ageing and carcinogenesis / N. M Emanuel / IARC : Lyon, 1985. – P. 127-149.

68. Haider, S.S. Arsenic induces oxidative stress, sphingolipidosis, depletes proteins and some antioxidants in various regions of rat brain/S.S.Haider, M.S.Najar// Kathmandu Univ. Med. J. (KUMJ). –2008. – Vol.6(1). – P.60-69.
69. Harman, D. Free Radicals and Aging / D. Harman / Eds.I. Emerit and B. Chacne. Basel : Birkhauser, 1992 . – P. 1-10.
70. Kolesnikova, L.I. Effect of Preparation Based on Trametes Pubescens Xylotroph Fungi on Lipid Peroxidation in the Blood of Experimental Animals under Conditions of Dark Stress/ L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov, E.D. Romanova, M.A. Darenskaya// Bull Exp Biol Med. –2017. – Vol.37. –P.321-323.
71. Macarthur, H. Oxidative stress attenuates NO-induced modulation of sympathetic neurotransmission in the mesenteric arterial bed of spontaneously hypertensive rats/H. Macarthur, T.C. Westfall, G.H. Wilken//. Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. –2008. – Vol.294(1). – P.183-189.
72. Nevskaya, N.A. Antioxidant medicines in treatment of severe peritonitis/N.A. Nevskaya// Дальневосточный медицинский журнал. – 2010. – №4. – С.126-130.
73. Prabhakar, M.C. Status of free radicals and antioxidants in leprosy patients/M.C.Prabhakar, D. Santhikrupa, N.Manasa, O.U.Rao// Indian J. Lepr. – 2013. – Vol.85(1). – P.5-9.
74. Serviddio, G. Free radical biology for medicine: learning from nonalcoholic fatty liver disease/G. Serviddio, F. Bellanti, F. Serviddio// Free Radic. Bio.l Med. –2013. –Vol.65. – P.952-968.

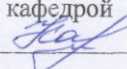
МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования

ПЕНЗЕНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Факультет
физико-математических
и естественных наук

Кафедра
«Общая биология и биохимия»

Направление подготовки
06.03.01 Биология
Профиль подготовки «Биохимия»

Утверждаю:
Зав. кафедрой
 Г.А. Карпова

« 2 » 11 2016 г.

Задание

По ВКР студента Шиловой Екатерины Анатольевны

Тема работы «Исследование влияния антиоксидантов на интенсивность
перекисного окисления липидов в модельной биологической системе
желточных липопропротеидов»

Утверждена приказом по Университету от « 6 » сентября 201 6 г. № 1191 а/о

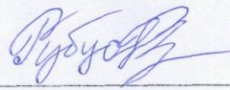
Срок сдачи студентом законченной работы « 26 » мая 201 7 г.

КАЛЕНДАРНЫЙ ПЛАН ВКР

№ п/п	Перечень подлежащих разработке вопросов:	Сроки выполнения этапов	Примечания
1.	Написание введения, обзора литературы.	16.11.16-14.12.16	Выполнено
2.	Подбор модельной биологической системы.	21.12.15-21.01.17	Выполнено
3.	Постановка методов биохимических исследований.	23.01.17-23.03.17	Выполнено
4.	Проведение эксперимента.	27.03.17-27.04.17	Выполнено
5.	Написание главы 2 «Материал и методы исследования».	28.04.17-8.05.17	Выполнено
6.	Статистическая обработка полученных результатов.	10.05.17-11.05.17	Выполнено
7.	Написание главы 3 «Результаты и их обсуждение».	12.05.17-15.05.17	Выполнено
8.	Написание выводов.	16.05.17-17.05.17	Выполнено
9.	Оформление списка литературы.	19.05.17-26.05.17	Выполнено

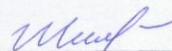
Дата выдачи задания 02.11.16

Руководитель


 (подпись)

Г.К. Рубцов

Задание принял к исполнению


 (подпись)