

Министерство образования и науки Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

Кафедра биохимии и биофизики

**Изменение содержания ТБК - активных продуктов, лактата и
оксида азота (NO) в сыворотке крови крыс
под действием нитрита натрия и *m* - толуидина**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

Студентки 4 курса 421 группы
направления подготовки 06.03.01 - Биология
Биологического факультета
Ващенко Татьяны Сергеевны

Научный руководитель

к. б. н., доцент

Га —
11.06.2018.

А. А. Галицкая

Заведующий кафедрой

д. б. н., профессор

С. А. Коннова
11.06.2018

С. А. Коннова

Саратов, 2018

Нитриты и амины представляют опасность для живых организмов, так как являются высокотоксичными и имеют большое распространение. Нитраты и нитриты в основном поступают в организм с овощами, при выращивании которых была нарушена норма внесения азотных удобрений, так же они способны поступать в организм с водой. Не меньшее количество нитратов поступает в организм из продуктов питания, при производстве которых нитраты используются как консерванты или для улучшения товарного вида. Амины попадают в организм с водой. Главными источниками загрязнения воды ароматическими соединениям аминной природы являются производства, которые занимаются либо непосредственным синтезом аминов, либо производством красителей и лекарств, технологии синтеза которых предполагают использование этих веществ.

Токсичность аминов и нитратов заключается в их способности окислять гемоглобин до метгемоглобина, что приводит гипоксии клеток организма. Это в свою очередь приводит к сбою метаболизма, усилению перекисного окисления липидов, торможению антиоксидантной системы, и т.д. Как следствие этих нарушений в организме начинают развиваться патологические процессы. Длительная интоксикация аминами и нитратами/нитритами может вызывать канцерогенез.

Целью данной работы было определить влияние нитрита и амина, включенных в рацион питания лабораторных животных, на некоторые биохимические показатели сыворотки крови, связанные с приспособлением к интоксикации.

Для достижения поставленной цели были сформулированы задачи:

1. Определить изменение содержания ТБК - активных продуктов в сыворотке крови крыс под действием нитрита натрия и *m* – толуидина.

2. Определить изменение содержания лактата в сыворотке крови крыс, подвергнутых действию *m*-толуидина и NaNO_2 .

3. Определить изменение концентрации оксида азота (II) в сыворотке крови крыс, в рацион питания которых были введены нитрит и амин.

Работа состоит из четырех основных структурных элементов: введения, списка литературы и приложений. В основную часть включены следующие разделы: обзор литературы, материалы и методы, результаты исследования. В обзоре литературы рассмотрены следующие вопросы: азотосодержащие соединения (нитриты, нитраты, амины) как экотоксиканты; перекисное окисление липидов – результат свободнорадикального окисления; использование показателей интенсивности перекисного окисления для оценки патологических состояний; изменение содержания оксида азота (NO) при патологии; молочная кислота как показатель патологических состояний.

В разделе Материалы и методы описана структура эксперимента и основные методы, применявшиеся в исследовании. В эксперименте использовали самцов белых беспородных крыс. Эксперимент проводился в течение 9 месяцев в период с января по октябрь 2016 года. Все экспериментальные животные были разделены на 2 группы. 1 группа контрольная ($n=10$) содержалась в стандартных условиях, на стандартном пищевом рационе. Вторая группа ($n=21$) – экспериментальная, в рацион которой дополнительно вводили токсиканты: 0,2% NaNO_2 в воду, и *m*-толуидин в пищу (25 мкг/ 1кг живого веса в сутки). После выведения крыс из эксперимента в сыворотке крови определили концентрацию молочной кислоты, ТБК- активных продуктов и оксида азота (II).

В работе использовались стандартные наборы для определения концентрации ТБК- активных продуктов, молочной кислоты и NO_2 .

На первом этапе исследования мы определили концентрацию ТБК - активных продуктов как значимого показателя интенсивности процессов перекисного окисления. Перекисное окисление липидов является последствием окислительного стресса и приводит к образованию большого количества различных продуктов, различающихся по химической структуре, биологической активности и токсичности. При многих патологических процессах интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) возрастает. Анализ ТБК - активных продуктов представляет интерес, так как на основе этих показателей можно сделать вывод о величине и силе окислительного стресса, о метаболическом, токсическом и регулирующем действии этого процесса на организм. По литературным данным оценка содержания продуктов перекисного окисления липидов дает возможность диагностировать некоторые заболевания.

При введении в рацион нитрита натрия и *m*- толуидина концентрация ТБК - активных продуктов в сыворотке крови контрольной группы составила $0,78 \pm 0,08$ мкмоль/л, при введении в рацион животных *m*- толуидина и оксида азота (II) содержание ТБК – активных продуктов повысилось до $2,58 \pm 0,17$ мкмоль/л. Нами было установлено достоверное повышение концентрации ТБК - активных продуктов более чем в 3 раза. Наглядно различие концентраций видно на рисунке 1. Полученные нами результаты соответствуют литературным данным: развитию патологических процессов, вызванное сочетанным действием нитрита и толуидина, приводит к интенсификации окислительного стресса и, следовательно, к увеличению концентрации в сыворотке крови лабораторных животных ТБК - активных продуктов.

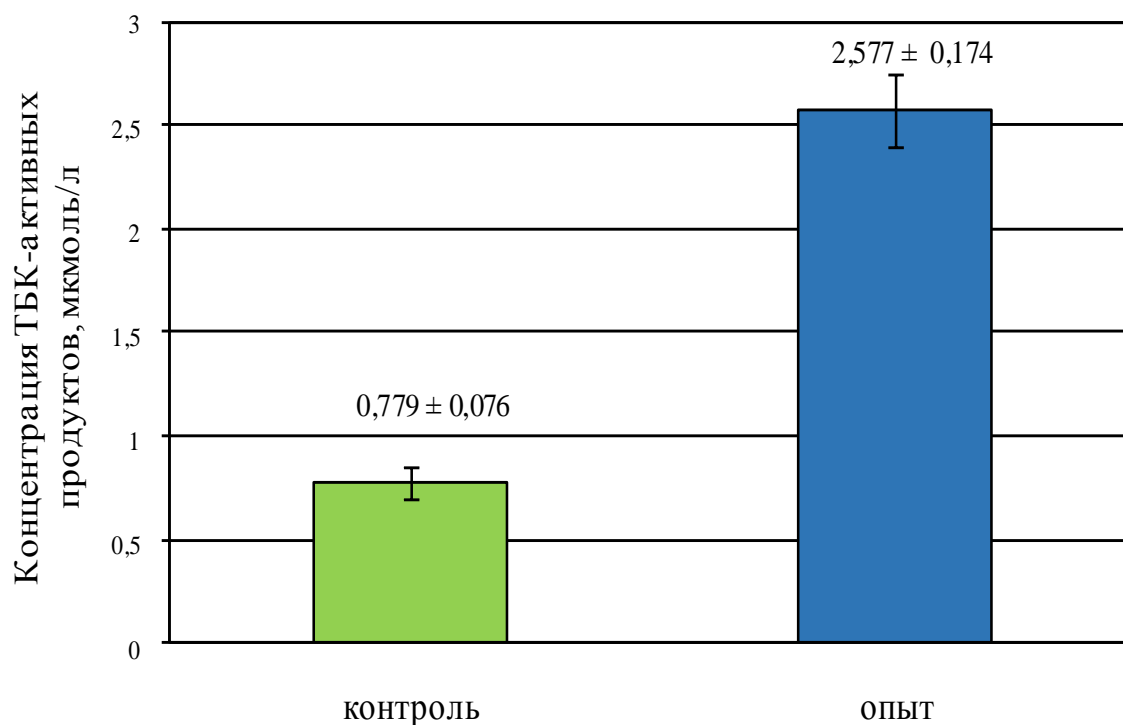


Рисунок 1 - Изменение содержания ТК - активных продуктов в сыворотке крови крыс под влиянием сочетанного действия нитрита натрия и толуидина.

На втором этапе исследования мы проводили определение концентрации молочной кислоты в сыворотке крови крыс в рацион которых был введен нитрит натрия и *m*- толуидин. Лактат часто рассматривают как важный показатель интенсивности углеводного обмена.

При определении концентрации молочной кислоты в сыворотке крови крыс, в рацион которых был введен нитрит натрия и *m*- толуидин, было выявлено, что в контрольной группе концентрация молочной кислоты составила $4,92 \pm 0,35$ ммоль/л. Концентрация молочной кислоты в сыворотке крови экспериментальных животных составила $4,63 \pm 0,18$ ммоль/л. Достоверной разницы не было выявлено. Полученные результаты представлены на рисунке 2.

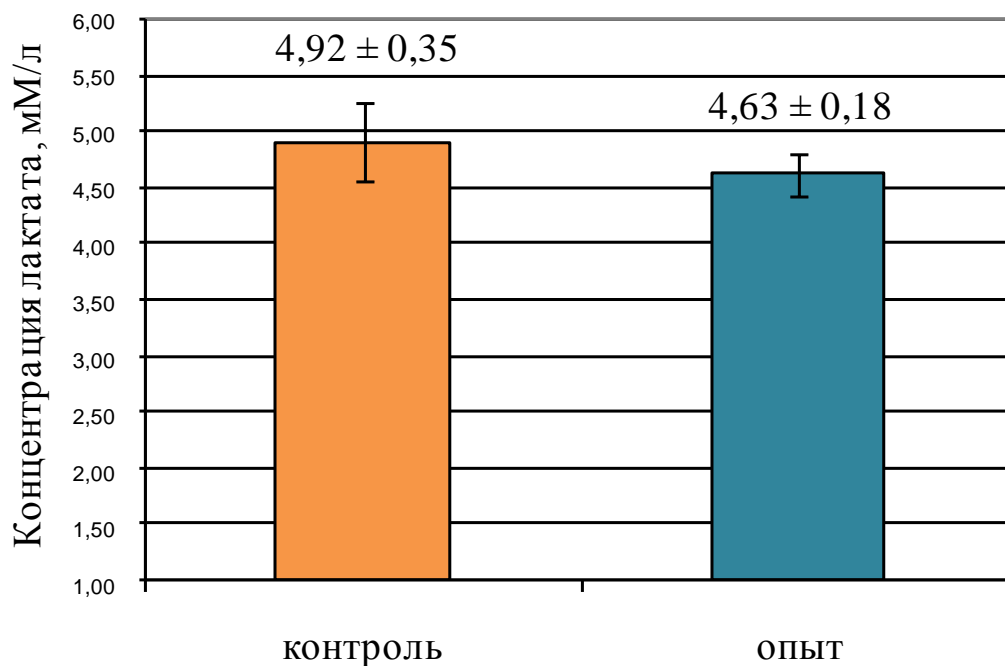


Рисунок 2 – Изменение концентрации лактата в сыворотке крови крыс после сочетанного действия нитрита и *m* – толуидина.

При выведении животных из эксперимента у некоторых были выявлены визуально различимые патологии желудочно - кишечного тракта. В соответствии с этим нами были дополнительно выделены группы, в которые вошли животных с опухолью пищевода, язвой желудка, и опухолью печени. Концентрация молочной кислоты у крыс с опухолью пищевода составила $4,92 \pm 0,35$ ммоль/л - это на 12% ниже, чем у контрольной группы. Содержание лактата у крыс с язвой желудка было на 7% ниже чем у крыс содержащихся в стандартных условиях, и составило $4,33 \pm 0,08$ ммоль/л. Результаты наглядно представлены на рисунке 3. Исходя из литературных источников, мы можем сделать предположение, что снижение концентрации лактата связано с развитием у крыс патологических процессов, которые способствуют канцерогенезу. Для активного деления раковых клеток необходимо большое количество энергии, основным источником которой является гликолиз. Наиболее эффективен с точки зрения количества энергии является аэробный гликолиз. Поэтому возможно происходит

переключение окисления глюкозы на аэробный путь. Так же снижение содержания лактата в крови может быть вызвано, использованием его в глюконеогенезе как предшественника глюкозы.

Противоположные результаты были получены при патологии печени. Концентрация лактата в крови крыс с опухолью печени составила $6,28 \pm 0,04$ ммоль/л- это 36% больше, чем у контрольной группы. Наглядно изменение концентрации видно на рисунке 4. Исходя из литературных данных, мы можем сделать вывод, что основной процесс глюконеогенеза проходит в печени, но в результате патологических процессов в печени поврежденные гепатоциты не выполняют свою функцию в полной мере, что приводит к повышению содержания лактата в крови.

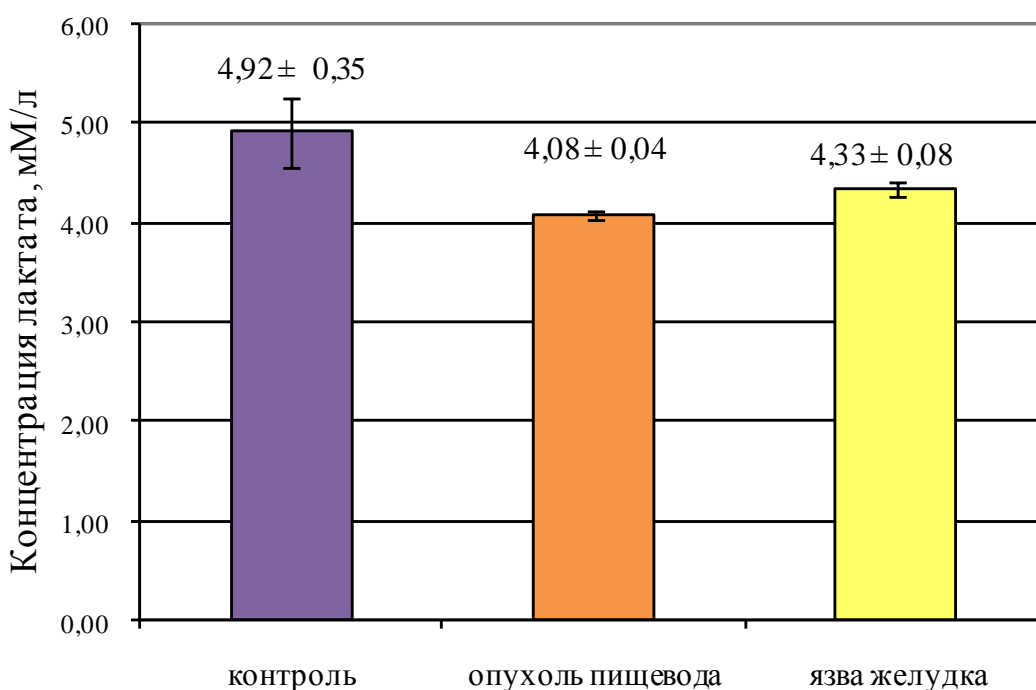


Рисунок 3 - Изменение содержания лактата в сыворотке крови крыс с опухолью пищевода и язвой желудка, развившихся под влиянием сочетанного действия нитрита натрия и толуидина.

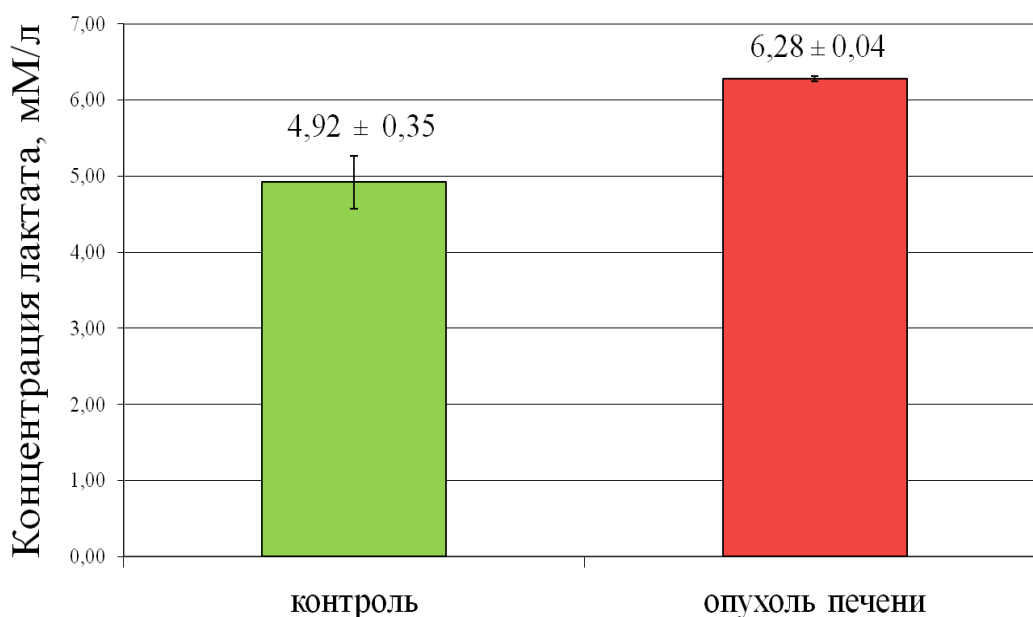


Рисунок 4 - Изменение содержания лактата в сыворотке крови крыс с опухолью печени, развившейся в результате сочетанного действия нитрита натрия и толуидина.

На третьем этапе было проведено измерение концентрации оксида азота (II). Оксид азота (NO) является одним из наиболее важных биологических медиаторов, который вовлечен в большое количество физиологических и патофизиологических процессов. Он принимает участие не только в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы, но и в регуляции деятельности центральной и вегетативной нервных систем, в функционировании желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы, в работе секреторных тканей и органов дыхания, в системе гемостаза.

В наших экспериментах в сыворотке крови контрольной группы животных концентрация NO составила $9,72 \pm 2,45$ ммоль/л. При сочетанном действии нитрита и амина концентрация оксида азота (II) достоверно снизилась практически в 2 раза и составила $4,19 \pm 0,68$ ммоль/л. Сравнивая полученные результаты с данными литературы, мы можем высказать предположение, что снижение концентрации оксида азота (II) является

результатом того, что это соединение обладает высокой реакционной способностью, быстро окисляется АФК, до нитратов или образуя пероксинитрилы, вступает во взаимодействие с белками и другими биологическими макромолекулами. Результаты представлены на рисунке 5.

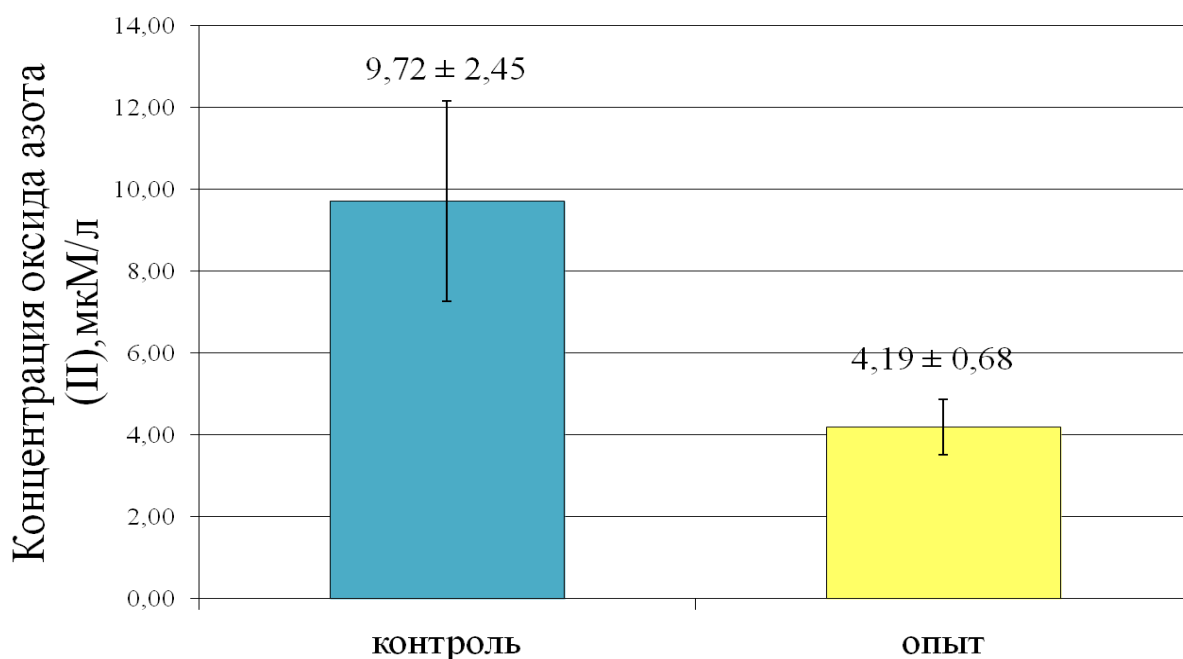


Рисунок 5 - Содержание оксида азота (II) в крови контрольных и опытных животных, подверженных сочетанному действию *m*- толуидина и нитрита натрия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Известно, что толуидин и NaNO_2 оказывают токсическое воздействие на живые организмы, вызывая образование метгемоглобина и последующую гипоксию, также эти вещества способны вызывать канцерогенез, и являются причинами развития многих патологий.

В данной работе было исследовано влияние толуидина и нитрата на такие показатели сыворотки крови белых беспородных крыс, как содержание в крови ТБК- активных продуктов, молочной кислоты и оксида азота (II).

Показано, что введение в рацион лабораторных животных толуидина в пищу в сочетании с присутствием нитрита в воде, приводит к повышению содержания в крови ТБК- активных продуктов, и снижению концентрации NO, и как снижению так и повышению концентрации молочной кислоты при определенных патологиях.

ВЫВОДЫ

1. Показано, что введение в рацион лабораторных животных одновременно 0,2% NaNO_2 и *m* - толуидина привело к увеличению концентрации ТБК - активных продуктов в сыворотке крови практически в 3 раза.

2. При визуально выявленной опухоли печени концентрация молочной кислоты возросла более чем на 36% относительно контрольной группы. Другие патологии привели к снижению величины этого показателя: при язве желудка концентрация лактата снижается на 12 %, при опухоли пищевода – на 7%.

3. Содержание оксида азота (II) в плазме крови лабораторных животных при введении в рацион токсикантов снижается не менее, чем в 2 раза.

