



УДК 615.1:577

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕННЯ ЛІПІДІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЛЮДИНИ

Студ. І.О. Пойда, гр. МГХФ-17

Студ. К.О. Журавель, гр. МГХФ-17

Студ. Ю.О. Борошніва, гр. МГХФ-17

Наукові керівники доц. В.І. Бессарабов

доц. Г.І. Кузьміна

Київський національний університет технологій та дизайну

Мета і завдання. Мета - пошук оптимального методу дослідження антиоксидантної дії перспективних інгібіторів окислення ліпідів крові людини для їх застосування в якості активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ). Завдання – вивчити механізм та методи аналізу перекисного окислення ліпідів сироватки крові людини.

Об'єктта предмет дослідження. Ліпіди сироватки крові людини. Методи визначення продуктів перекисного окислення ліпідів сироватки крові людини.

Методи та засоби дослідження. Аналіз інформаційних джерел (фахова література та інтернет-ресурси) за останні 15 років, інтерпретація та узагальнення наукової інформації.

Наукова новизна та практичне значення отриманих результатів. Визначено оптимальний метод вивчення антиоксидантної здатності АФІ – перспективних інгібіторів перекисного окислення ліпідів сироватки крові людини. Практичне значення – застосування обраного методу дослідження антиоксидантної дії АФІ на стадії фармацевтичної розробки геріатричних фармацевтичних композицій для запобігання передчасному старінню та лікування нейродегенеративних захворювань у людей літнього віку.

Результати дослідження. Перекисне окислення ліпідів (ПОЛ) – це складний біохімічний процес: ліпіди в присутності вільних радикалів втрачають атом водню, переходять у вільнорадикальну форму ($L\cdot$) і з легкістю взаємодіють з молекулярною киснем з утворенням пероксидного радикалу ($LOO\cdot$). Потім відбувається ланцюгова реакція, яка включає в себе активацію та деградацію ліпідних радикалів, вбудовування в ліпідіактивованого молекулярного кисню, зміну конфігурації подвійних зв'язків в полінасичених ацилах ліпідів та, як наслідок, деструкція мембранних ліпідів та самих мембран. Деструкція мембран, в свою чергу, призводить до смерті клітин та порушення роботи тих чи інших органів та їх систем. Прискорення вільнорадикального окислення призводить до патології і захворювань. Ферменти антиоксидантної системи організму людини та хімічні речовини, які володіють антиоксидантними властивостями, зменшують інтенсивність ПОЛ. Лікувальний ефект відомих препаратів з АФІ-антиоксидантами пояснюється інгібуванням процесів ПОЛ.

Аналіз методів дослідження ПОЛ показав, що на цей час розроблені методи визначення вільних кисневих радикалів, речовин, які відображають вираженість перекисного окислення ліпідів, а також компонентів антиоксидантного захисту [1].

Прямий аналіз первинних продуктів перекисного окислення ліпідів досить складний внаслідок низької концентрації *in vivo* [1]. Для характеристики кисневих радикалів були запропоновані методи електронно-парамагнітної резонансної (ЕПР) спектроскопії, спінових пасток з подальшим використанням ЕПР-спектроскопії, темної хемілюмінісценції (для виявлення синглетного кисню); спектрофотометричний метод, заснований на реакції відновлення супероксидним радикалом цитохрому до

ферроцітохрома ($O_2\bullet$ -виступає в якості в якості відновника); метод виявлення $\bullet OH$ за допомогою салицилату (при їх взаємодії утворюються аддукти бензойної кислоти, які визначають методом високоефективної рідинно хроматографії з електрохімічної детекцією) тощо. Найбільш розповсюдженими методами оцінки ПОЛ на цей час є методи визначення вторинних продуктів процесів окислення ліпідів. Для оцінки стану процесу ПОЛ використовують метод визначення антиоксидантної активності з використанням метілолеатної моделі по гальмуванню реакції термічного окислення метилового ефіру олеїнової кислоти; визначення рівня полі ненасичених жирних кислот методом газорідинної хроматографії; йодометричний метод для визначення ліпідних гідропероксидів в крові тощо. Метод визначення активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіон-пероксидази, глутатіон-редуктази) в клітинах крові та рідинах організму є непрямим показником антиоксидантного захисту [1]. Серед вторинних продуктів ПОЛ малоновий діальдегід (МДА) становить приблизно 70% від загальної кількості альдегідів, що утворюються при перекисному окисленні ліпідів. МДА є проміжним продуктом ензиматичного окиснення арахідонової кислоти та кінцевим продуктом окиснювальної деградації ліпідів.

Існують прямі методи визначення МДА, в яких аналізується МДА безпосередньо, і непрямі методи визначення продуктів реакції МДА з іншими сполуками. Методики прямого визначення МДА базуються на застосуванні високоефективної рідинної хроматографії з УФ-спектрофотометрією. Цей метод вважається найбільш привабливий з точки зору специфіки і чутливості, але він має свої особливості та технічні труднощі, пов'язані з підготовкою проб, необхідністю постійного застосування свіжих стандартів, наявністю спеціального обладнання.

Методики непрямого визначення МДА базуються на реакції МДА з первинними амінами з утворенням кон'югованих Шіффових основ (спектрофлуориметричний метод) та з тіобарбітуровою кислотою (спектрофотометричний метод, ТБК-тест). ТБК-тест є найбільш простим в апаратурному оснащенні і широко вживаним в клінічній і дослідній практиці. Принцип метода полягає в визначенні інтенсивності забарвлення, яке дає триметиновий комплекс, що утворюється в ході реакції між МДА та тіобарбітуровою кислотою (спектр поглинання з максимумом при $\lambda=535\text{nm}$). Результати ТБК-тесту кількісно корелюють вміст МДА в сироватці крові людини та вираженість ПОЛ [2-4].

Висновки. На стадії фармацевтичної розробки нових геріатричних лікарських засобів доцільно використання ТБК-тесту як найбільш достовірного *in vitro* метода визначення вторинних продуктів ПОЛі відповідно антиоксидантної здатності досліджуваних АФІ.

Ключові слова. Перекисне окислення ліпідів, антиоксиданти, сироватка крові людини.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Узбеков М.Г. Перекисное окисление липидов и антиоксидантныесистемы при психических заболеваниях. Сообщение II /М.Г. Узбеков//Социальная и клиническая психиатрия. - 2015. - Т. 25, № 4. – С. 92-101.
2. Болдырев А.А. Биомембранология: учеб. пос. /А.А. Болдырев, Е.И. Кяйвярайнен, В.А. Илюха. – Петрозаводск: Изд-во Кар НЦ РАН, 2006.–226 с.
3. Esterbauer H. Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes/H.Esterbauer, R.J.Schaur, H.Zollner//Free Radic Biol. Med. - 1991. - Vol. 11, № 1. –Р. 81–128.
4. 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.