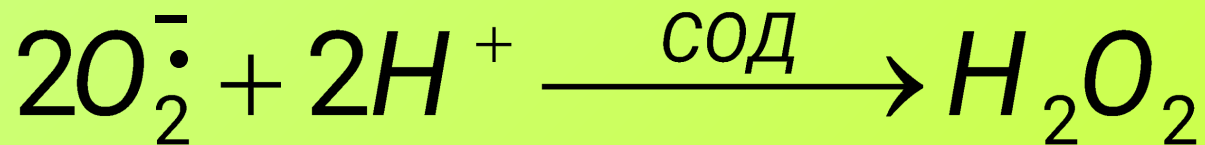
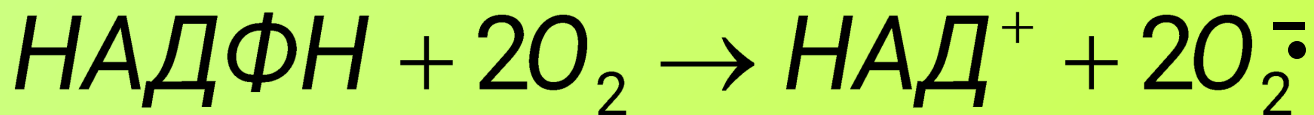
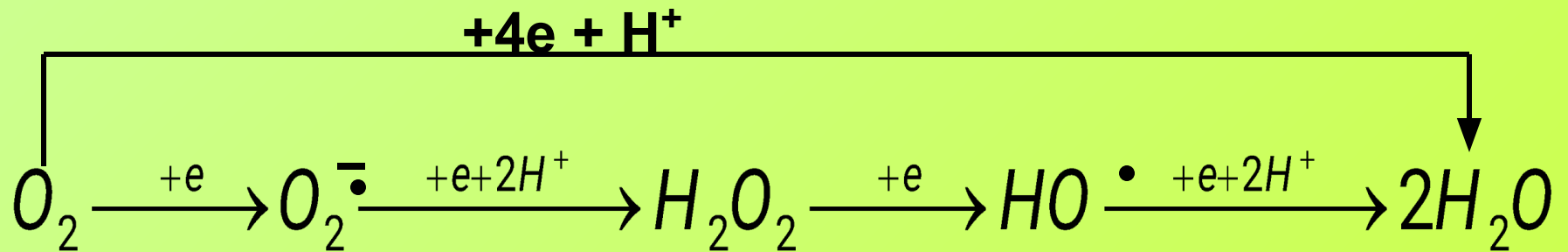
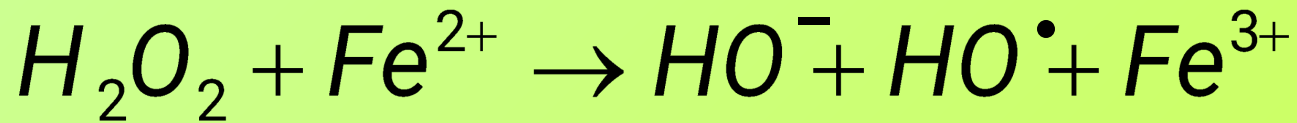


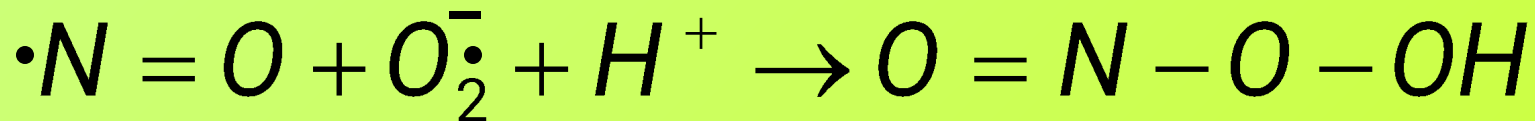
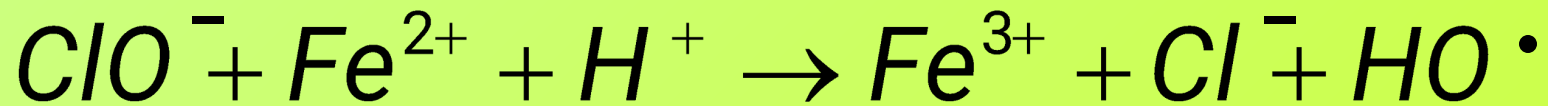
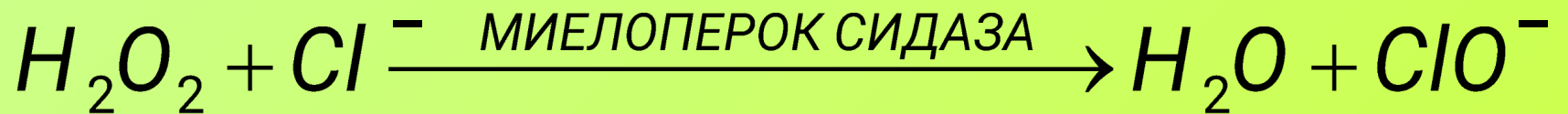
Физиологические эффекты
активных форм кислорода.

Основные механизмы образования АФК.





Реакция Фентона



NAD(P)H-оксидазы - главные физиологические продуценты АФК в клетках сосудов.

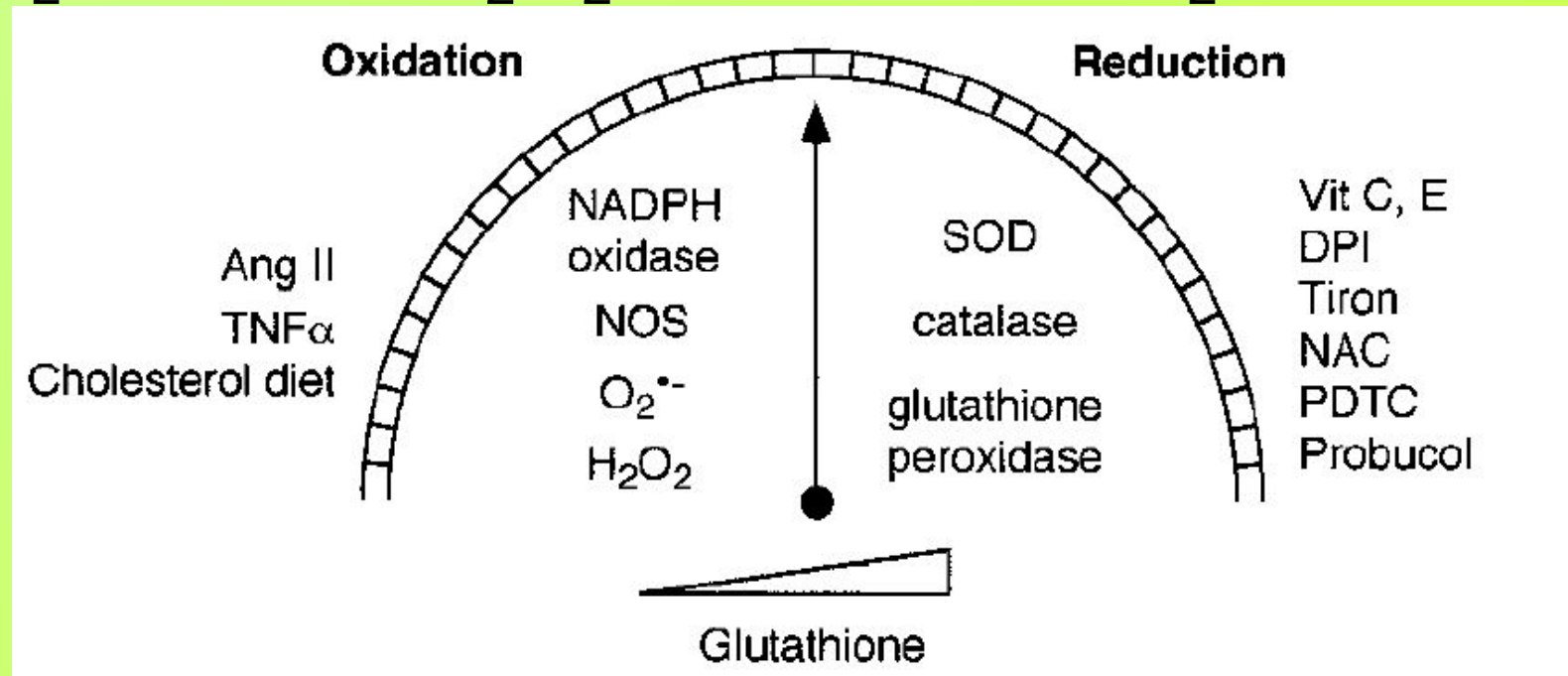
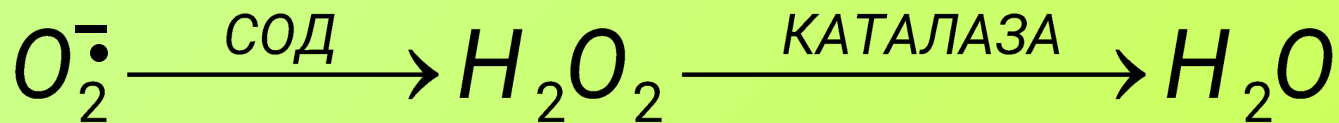
NAD(P)H-оксидаза - 4 субъединицы:

- цитохром b558: gp91phox и p22phox
- 2 цитозольных компонента:
p47phox и p67phox.

G-белок гас-семейства участвует в сборке активного комплекса.

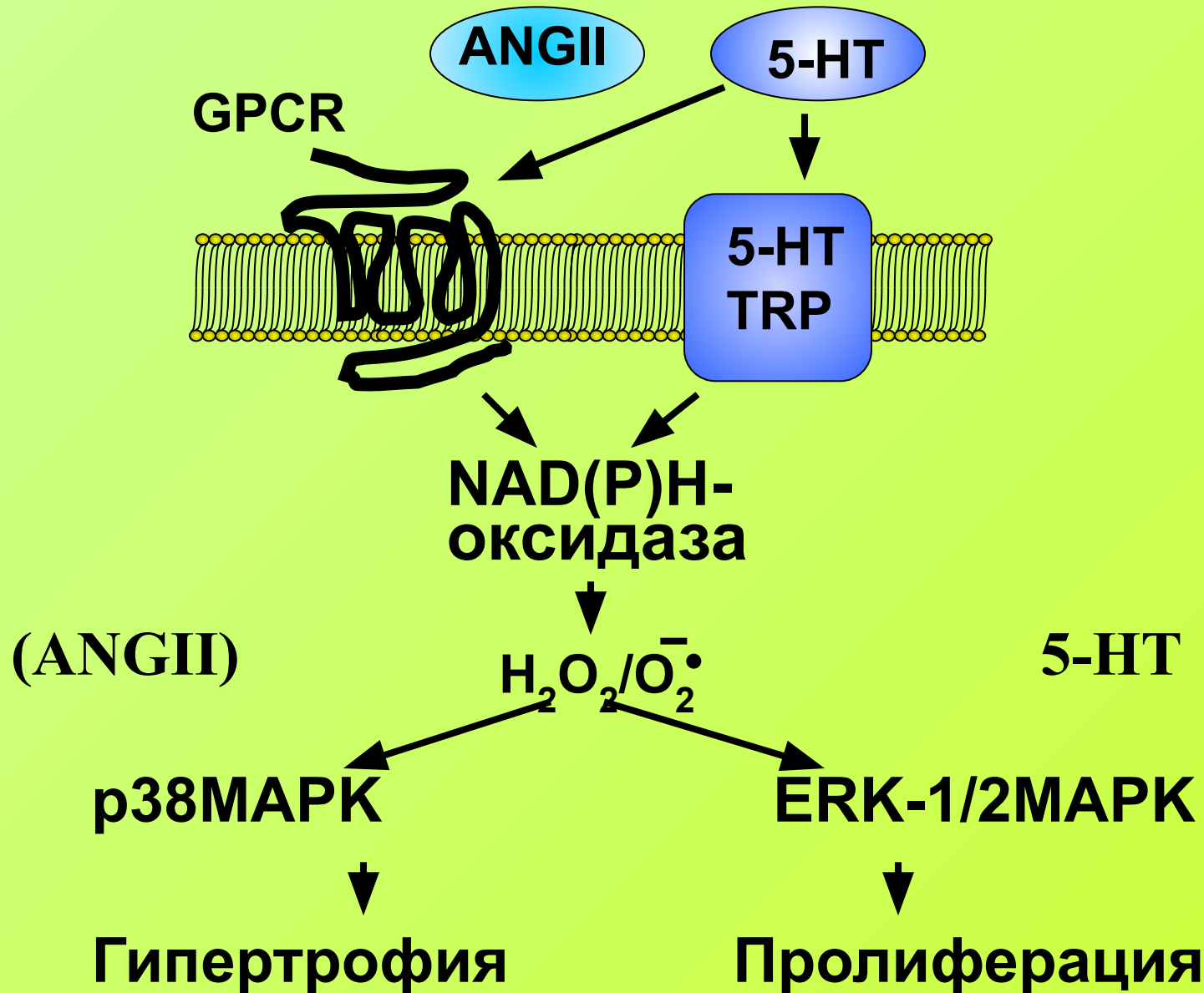
Точно неизвестно, какие субъединицы функционально активны для производства АФК в разных типах клеток.

Уровень АФК строго контролируется:

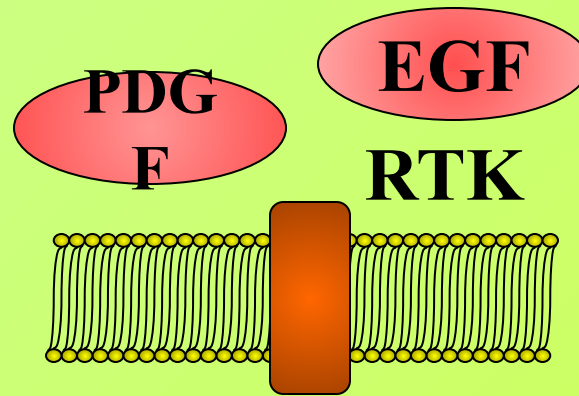


АФК - внутриклет. «реостат», модулирующий активность биохимических реакций.

АФК как сигнальные молекулы в ГМК



NIH3T3-клетки (immortalized fibroblasts)



↓
p21^{Ras}

↓
Rac

активация мембран-связанного оксидазного
комплекса (?гомолога gp91phox)

↓
 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{O}_2^-$

↓
Ингибирование белковой тирозин-фосфатазы

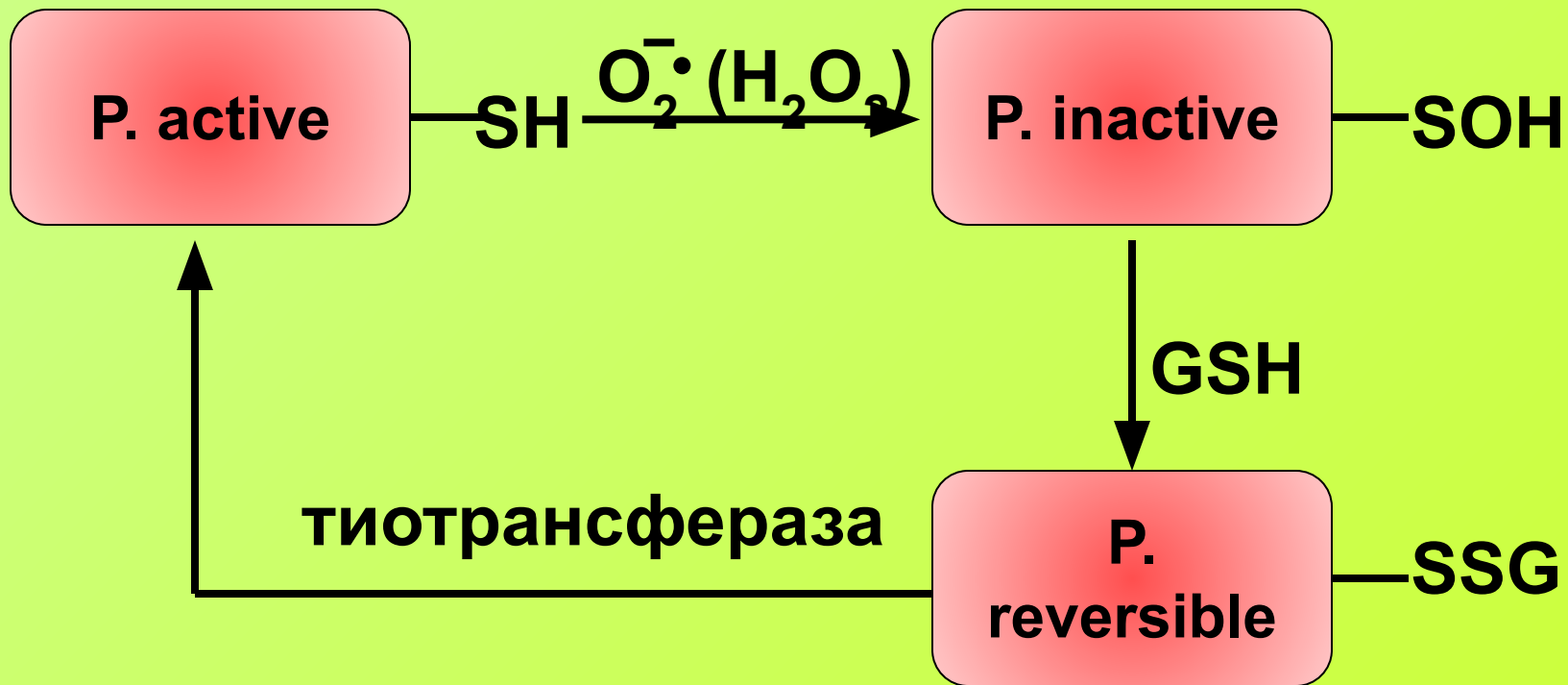
↓
Пролиферация

Первичные легочные фибробласты.

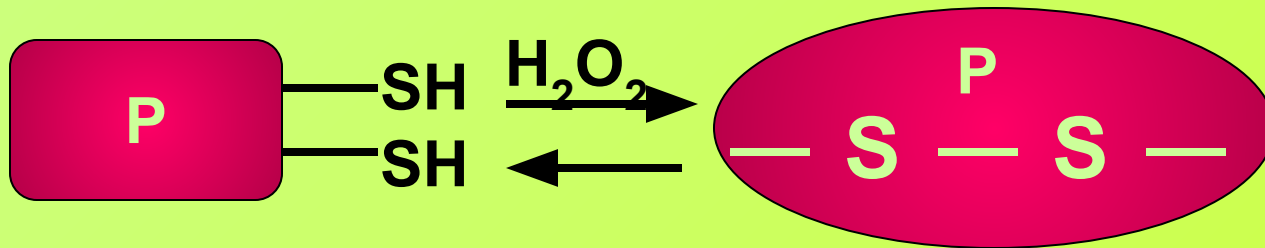


Оксидативная модификация белков как
возможный механизм АФК-опосредованной
передачи сигналов в клетке.

ОМ белков путем окисления Cys-остатков



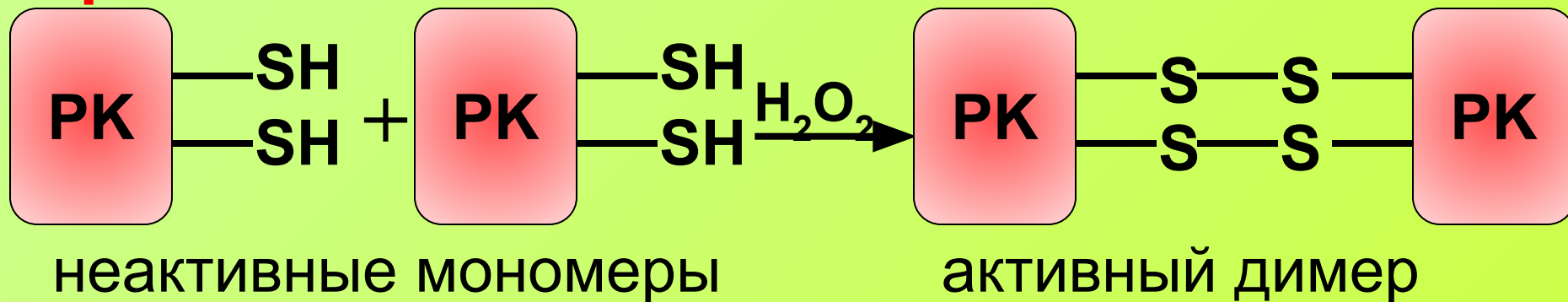
Образование внутримолекулярных дисульфидных мостиков



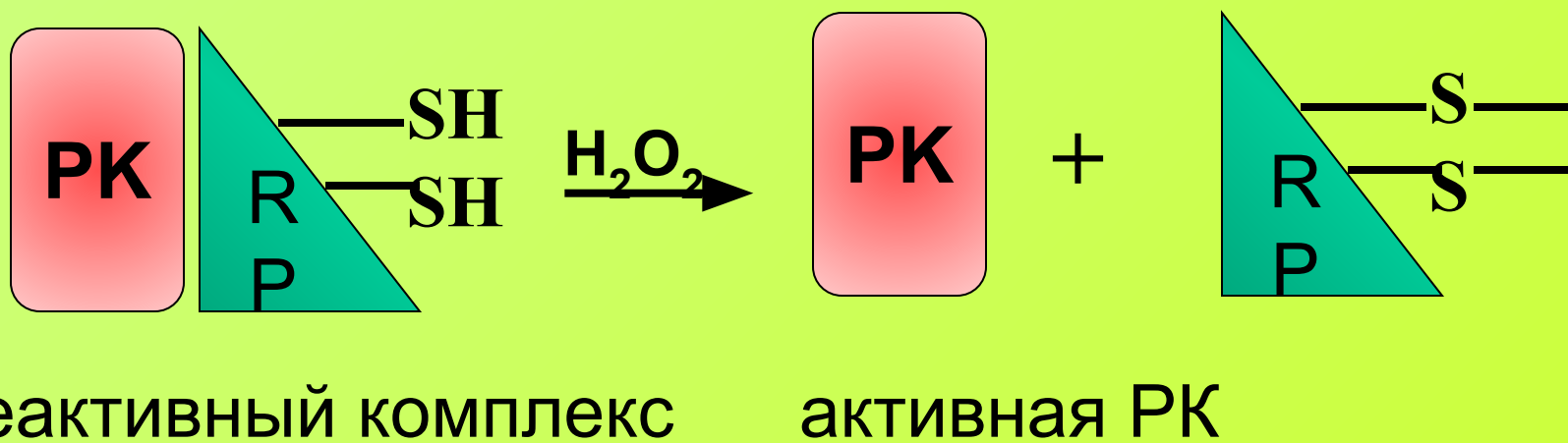
Изменение активности путем
конформационных изменений
в структуре белка

Димеризация белков межмолекулярными дисульфидными мостиками:

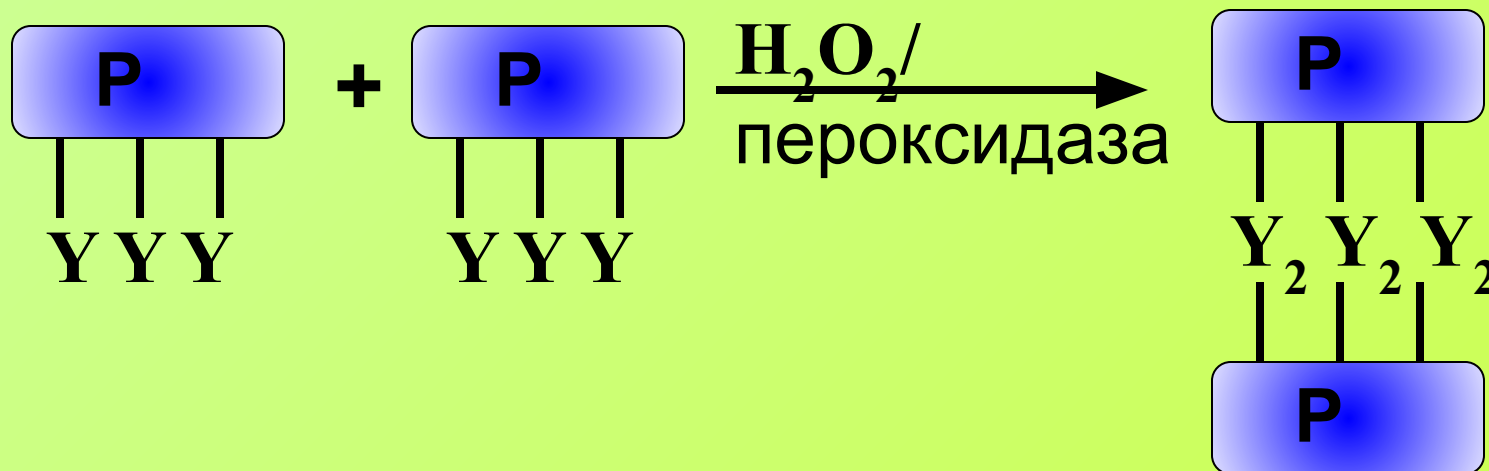
прямая:



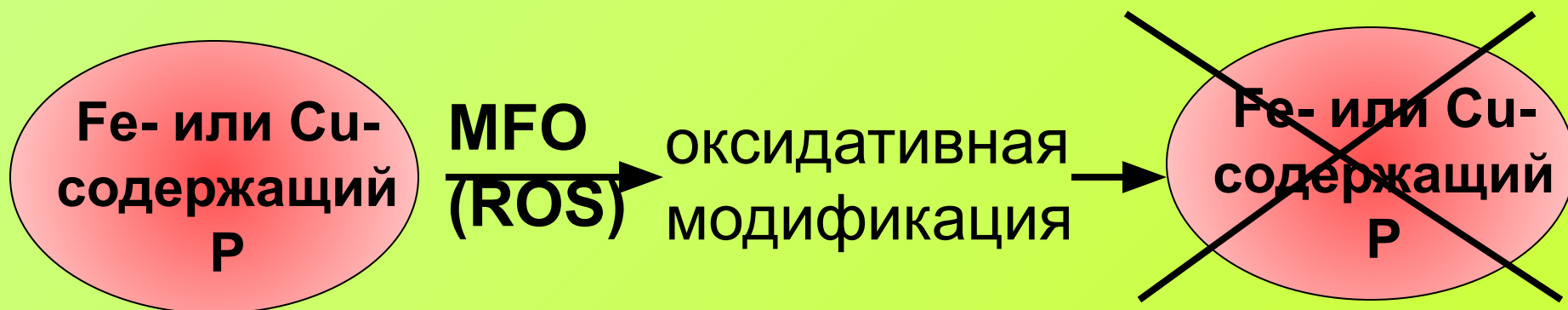
обратная:



Образование дитиросиновых связей:



Металл-катализируемое окисление

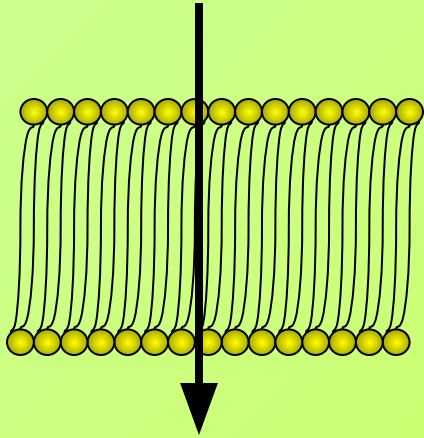


Методы изучения АФК

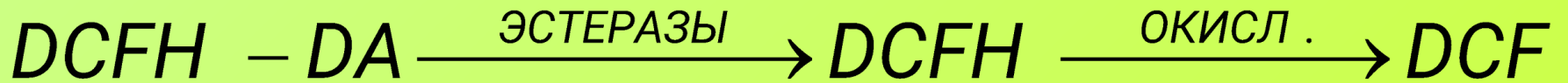
Люцигенин - хемилюминесцентный субстрат для определения $O_2^{\cdot-}$ в клетке.



DCFH-DA



DCFH - 2',7'-дихлорфлуоресцин -
нефлуоресцирующий
DCF - 2',7'-дихлорфлуоресцеин -
флуоресцирующий



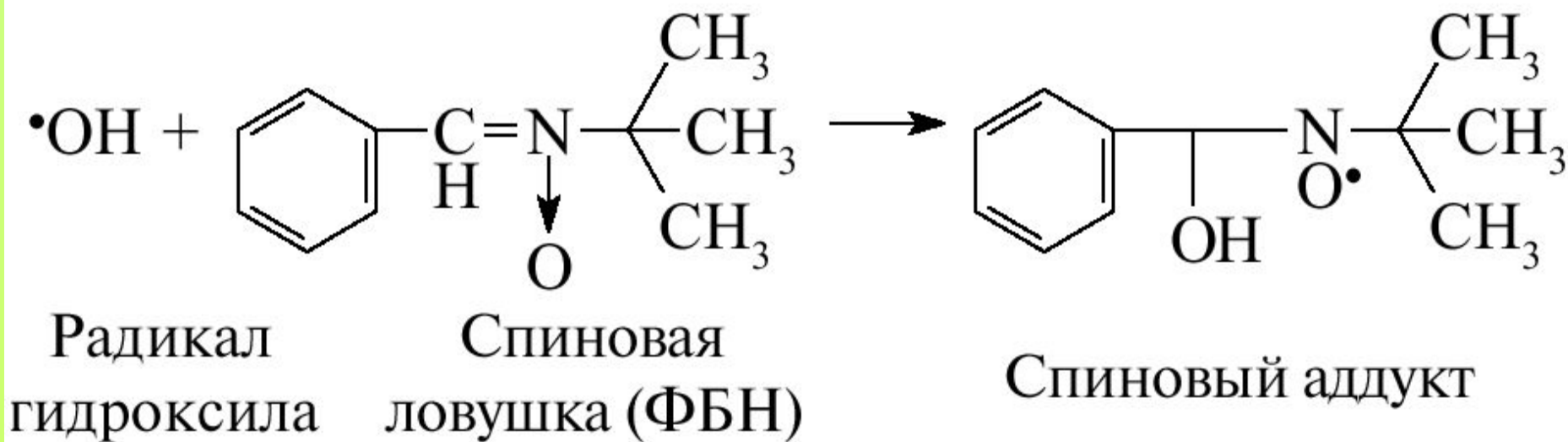
Флуориметрический метод, основанный на способности гем-пероксидаз катализировать H_2O_2 -зависимую димеризацию замещенных фенольных элементов.

Высокая специфичность и чувствительность к H_2O_2 .

Наиболее часто используется пероксидаза хрена.

Электрон-спиновая резонансная спектроскопия - единственный аналитический метод.

Метод спиновых ловушек - нитроны или
нитрозосоединения.



РЕЗЮМЕ:

- **АФК не только вредные побочные продукты клеточного метаболизма, но и важные регуляторы жизнедеятельности клетки.**
- **Уровень АФК строго контролируется**
- **Передача сигналов в клетке с помощью**

АФК осуществляется путем оксидативной модификаций с клеточными компонентами, такими как киназы, белки или ДНК.