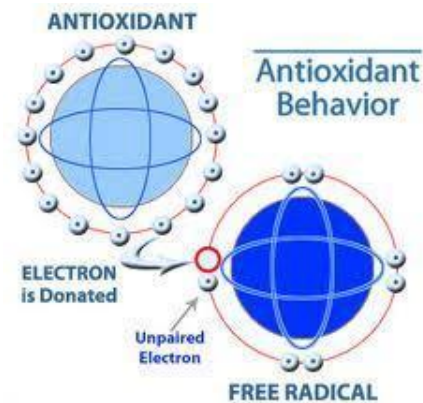
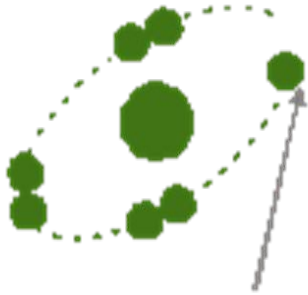


*Активные формы  
кислорода.  
Антиоксидантная  
защитная система.  
Перекисное окисление  
липидов.*



# Свободные радикалы.

- ▶ *Химические соединения, имеющие высокую реакционную способность, благодаря наличию в составе одного или двух неспаренных электронов на внешней орбитали, называются свободными радикалами.*



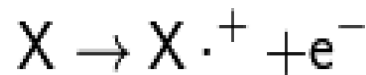
Неспаренный электрон

- ▶ *Радикал может образоваться в результате потери одного электрона или при получении одного электрона нерадикальной молекулой.*

- ▶ *Для биологических систем наиболее важны кислородные свободные радикалы (R.)*

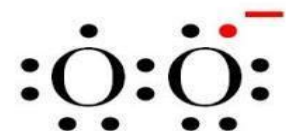


Спаренные электроны



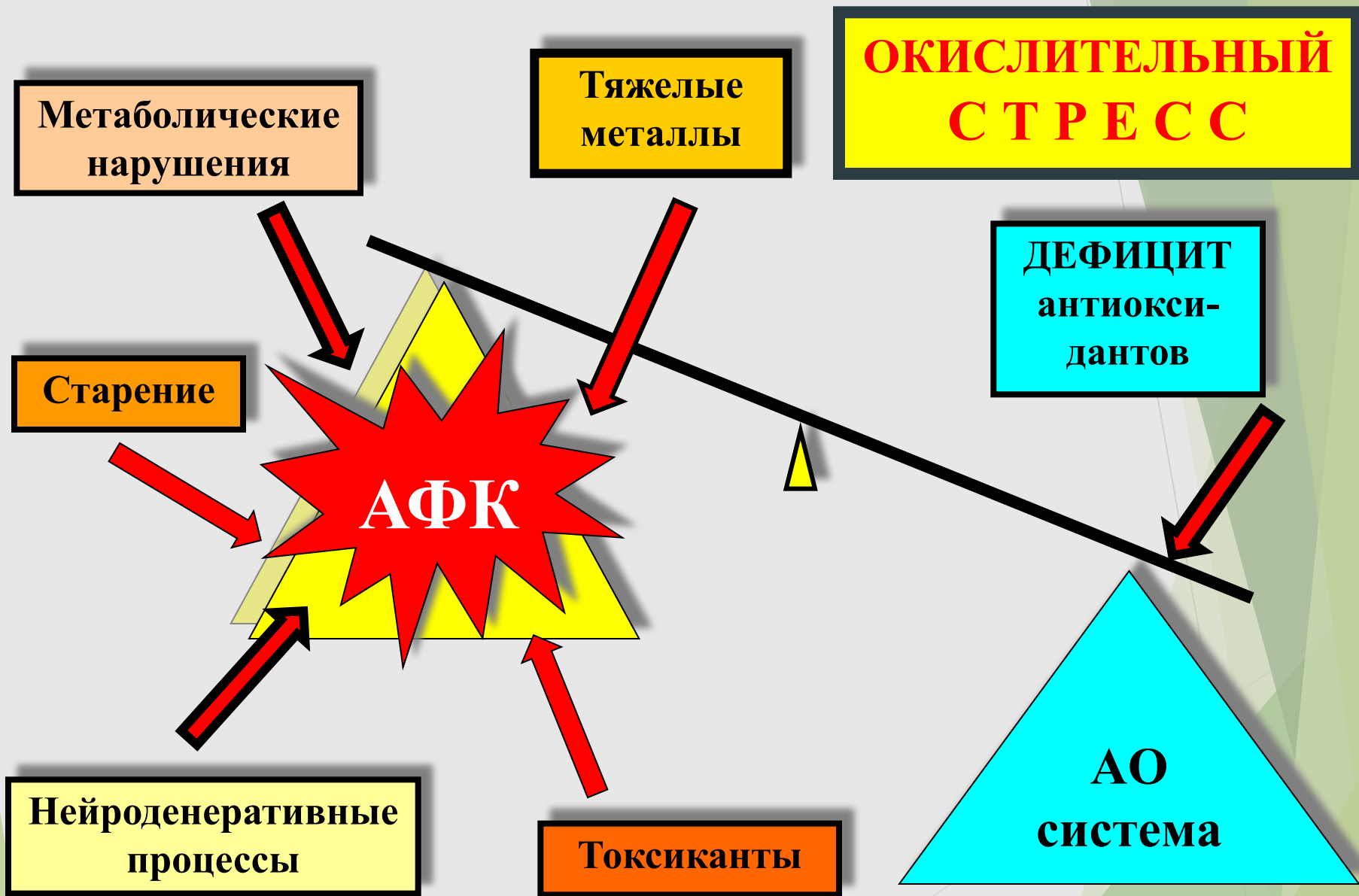
# *Кислородные свободные радикалы называют также активными формами кислорода (АФК)*

- ▶ *Кислород, необходимый организму для функционирования (в ЦПЭ и многих других реакций), является одновременно и токсическим веществом, если из него образуются активные формы кислорода (АФК).*
- ▶ *В норме в организме образуется около 2% АФК от всего кислорода, процесс образования идет спонтанно и подавить его трудно.*

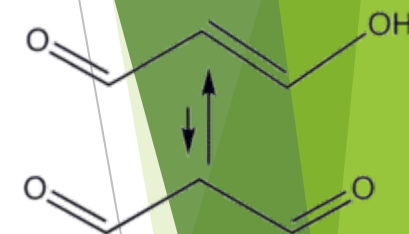
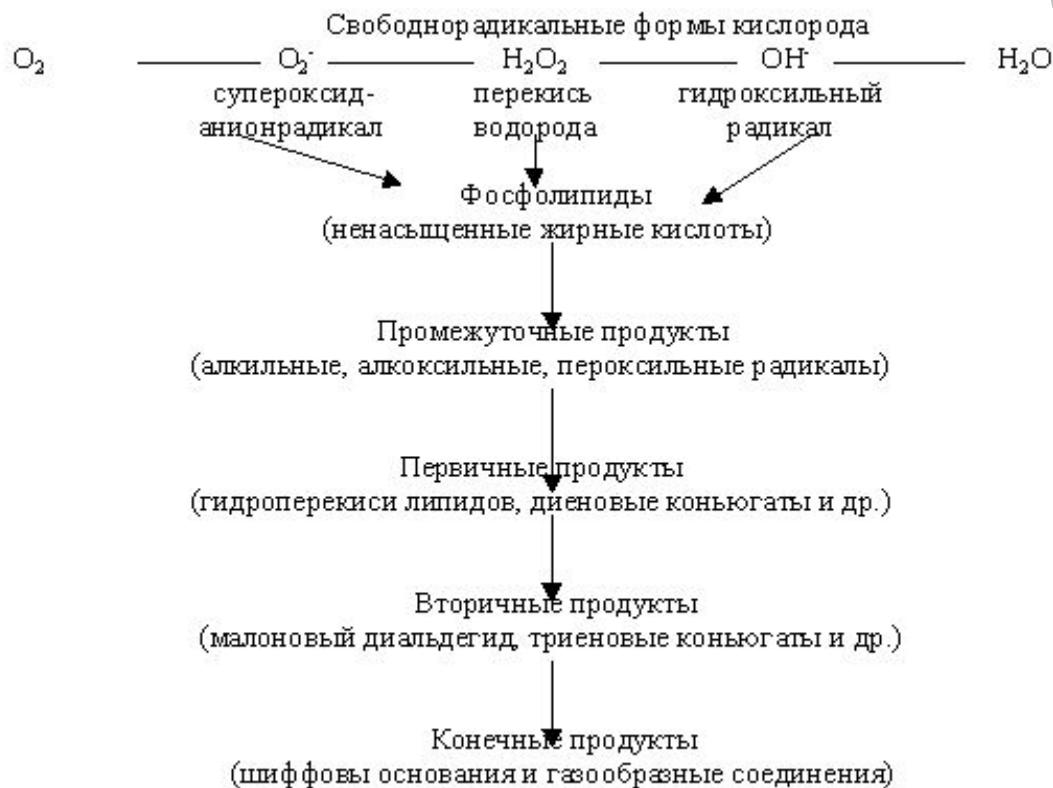
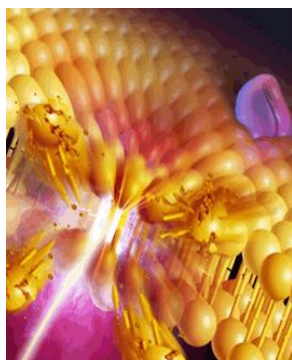


# Факторы, вызывающие образование АФК





# ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ

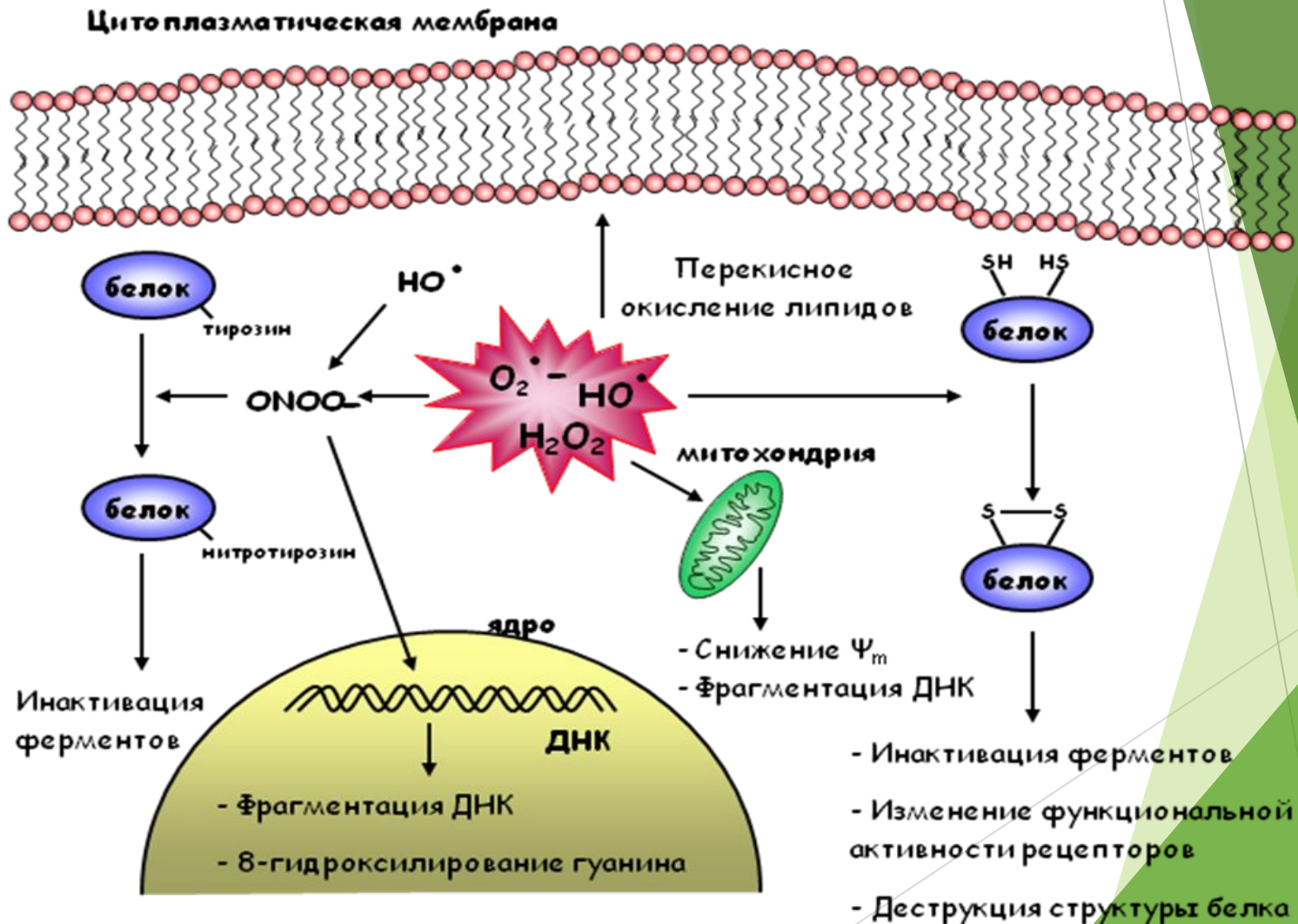


Малоновый диальдегид

**Перекисное окисление липидов (ПОЛ)** является важной причиной накопления клеточных дефектов. Основным субстратом ПОЛ являются полиненасыщенные жирные кислоты, входящих в состав клеточных мембран, а также липопroteинов. Атака кислородными радикалами приводит к образованию гидрофобных радикалов. Образующиеся липидные радикалы, а также **4-гидроксиноненаль** и **малоновый диальдегид** могут атаковать молекулы белков и нуклеиновых кислот. Альдегидные группы этих соединений образуют межмолекулярные сшивки, что сопровождается нарушением структуры макромолекул и их функций.



# ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ДЕСТРУКЦИЯ КЛЕТКИ



# К активным формам кислорода относятся:



## Основные АФК:

*OH - радикал, гидроксильный радикал;*

*O<sub>2</sub><sup>-</sup> - супероксидный анион;*

*H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - пероксид водорода.*

**Важнейшими АФК также считаются :**

*- синглетный кислород (1O<sub>2</sub>),*

*- пергидроксил (HO<sub>2</sub>),*

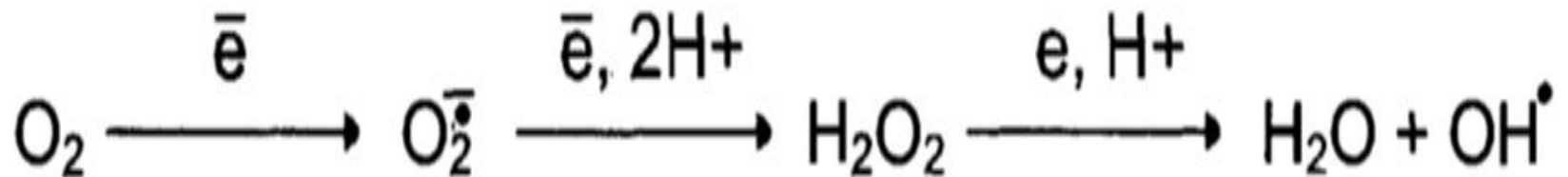
*- гипохлорит анион (ClO<sup>-</sup>),*

*- пероксинитрат (ONOO<sup>-</sup>).*



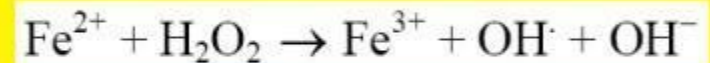
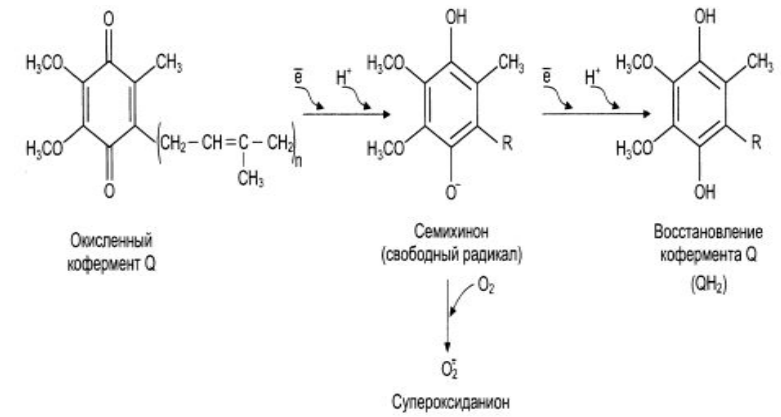
# Как же образуются АФК?

- ▶ АФК образуются в результате последовательного присоединения электронов к молекуле кислорода. Конечный продукт реакций - вода.
- ▶ В ходе реакций образуются:
- ▶  $O_2^{\bullet -}$  - супероксидный анион,  
 $H_2O_2$  - пероксид водорода  
 $HO\bullet$  - гидроксильный радикал



# Источники электронов в клетках

- ▶ **Утечка электронов из ЦПЭ (убихинон) и непосредственное их взаимодействие с кислородом в митохондриях - основной путь образования АФК в клетках.**
- ▶ Утечка электронов из микросом за счет цитохрома P- 450.
- ▶ Превращение двухвалентного железа в трехвалентное в гемоглобине (реакция Фентона) и некоторые др.



**АФК наносят огромный вред организму т.к. очень легко вступают в химические реакции. Для организма важно равновесие, образование не более 2% АФК.**

- ▶ Такая нестабильная частица, сталкиваясь с другими молекулами, "крадет" у них электрон, что существенно изменяет структуру этих молекул.
- ▶ Пострадавшие молекулы стремятся отнять электрон у других "полноценных" молекул, вследствие чего развивается разрушительная цепная реакция, губительно действующая на живую клетку.



# БАЛАНС АФК В ЖИВЫХ КЛЕТКАХ



ГЕНЕРАЦИЯ  
АФК

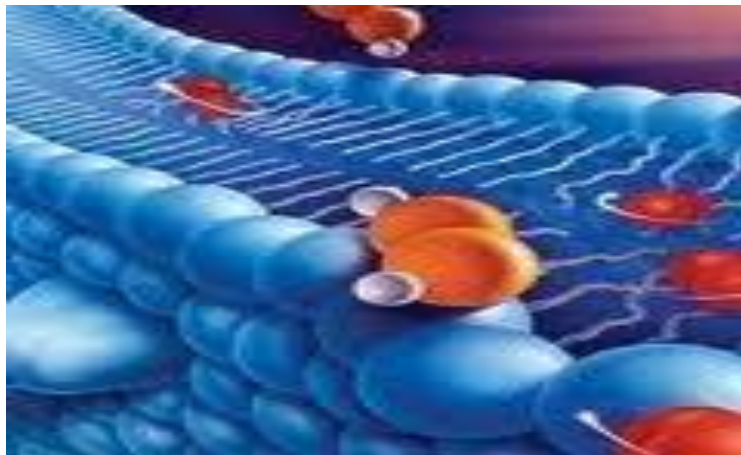
Дыхательная цепь митохондрий, NADPH-оксидаза нейтрофилов, микросомальное окисление, неферментативное окисление биогенных аминов

ТУШЕНИЕ  
АФК

СОД, Каталаза, Пероксидазы, Низкомолек. антиоксиданты (мочевая кислота, таурин, витамины А, С, Е, карнозин, N-ацетилцистеин, глутатион), хелаторы ионов железа

**Что происходит если нарушается равновесие между образованием и тушением АФК. Высокий уровень АФК приводит к образованию окислительного стресса (активируется ПОЛ), который может вызвать апоптоз клетки или некроз ткани.**

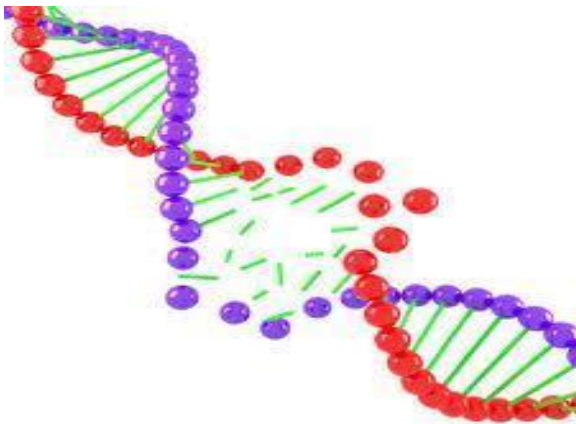
**Научно доказано что АФК повинны в развитии более 100 заболеваний, таких как: рак, атеросклероз, инфаркт, инсульт, ишемия, атеросклероз, заболевания нервной и иммунной систем и заболевания кожи.**





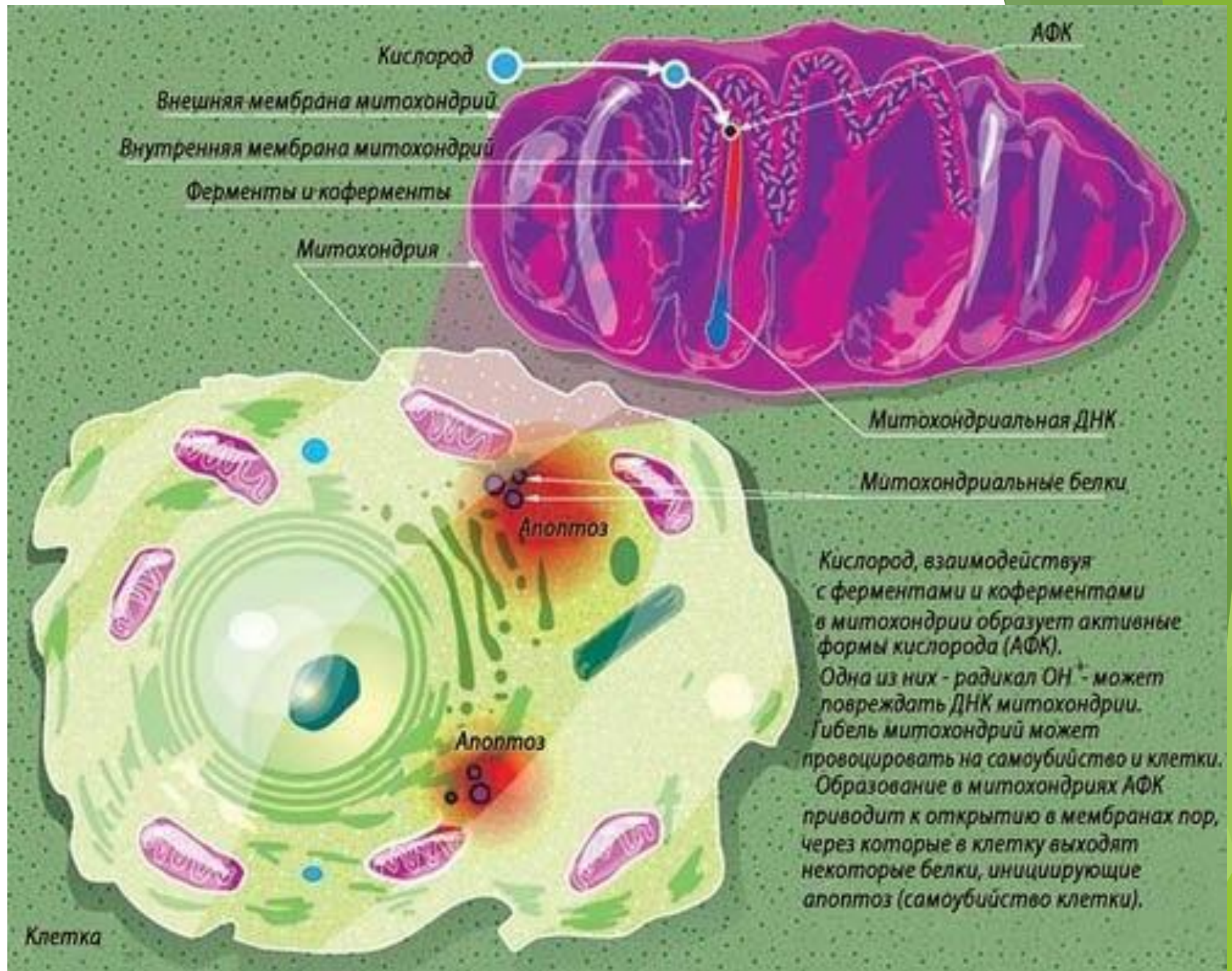
# Повреждающее действие АФК

- ▶ **РАЗРУШЕНИЮ ПОДВЕРГАЮТСЯ:**
- ▶ 1. Аминокислоты в белках (нарушается структура белков, между ними образуются ковалентные сшивки, эти белки гидролизуются)
- ▶ 2. Нуклеотиды в ДНК (окисление аденина и получение 8-гидроксиаденина, как следствие мутации)
- ▶ 3. Полиненасыщенные высшие жирные кислоты, входящие в состав липидов мембран клеток.



# **АФК: повреждение белков**

- ▶ *Свободнорадикальное окисление нарушает структуру белков.*
- ▶ *В белках окисляются некоторые аминокислоты (лизин, аргинин и пролин) .*
- ▶ *В результате разрушается структура белков, между ними образуются ковалентные "сшивки", всё это активирует протеолитические ферменты в клетке, гидролизующие повреждённые белки.*



Кислород

АФК

Внешняя мембрана митохондрий

Внутренняя мембрана митохондрий

Ферменты и коферменты

Митохондрия

Митохондриальная ДНК

Митохондриальные белки

Апоптоз

Апоптоз

Клетка

Кислород, взаимодействуя с ферментами и коферментами в митохондрии образует активные формы кислорода (АФК). Одна из них - радикал  $\text{OH}^\bullet$  - может повреждать ДНК митохондрии. Гибель митохондрий может провоцировать на самоубийство и клетки. Образование в митохондриях АФК приводит к открытию в мембранах пор, через которые в клетку выходят некоторые белки, инициирующие апоптоз (самоубийство клетки).

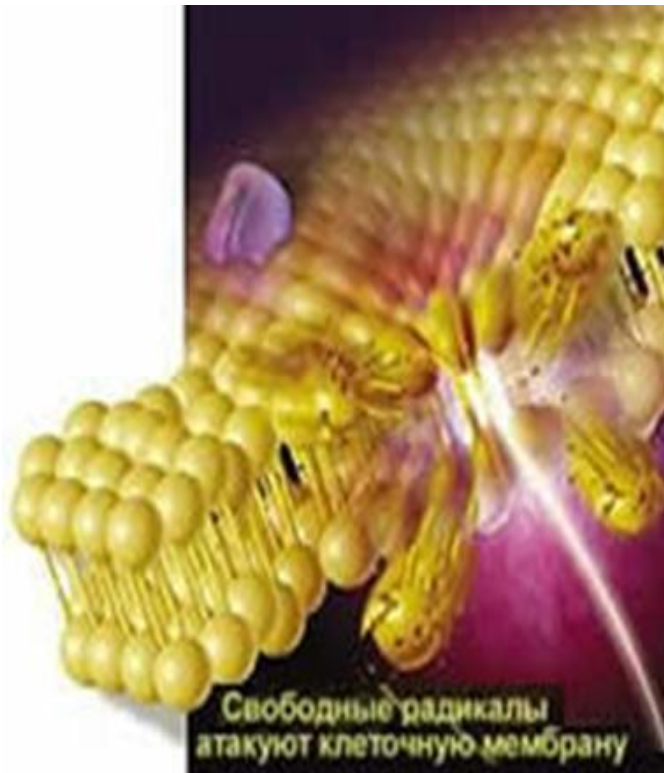


# АФК атакуют липиды мембраны клеток

В результате изменяются свойства  
мембраны:

- ▶ Микровязкость
- ▶ Выжигаются дыры в мембране
- ▶ Изменяется проницаемость (набухание мембраны за счет утечки воды)
- ▶ Изменяется ионный состав

Эти изменения нарушают  
жизнедеятельность клетки и приводят ее к  
гибели.

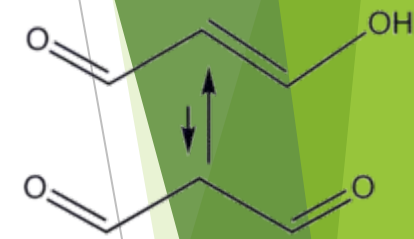
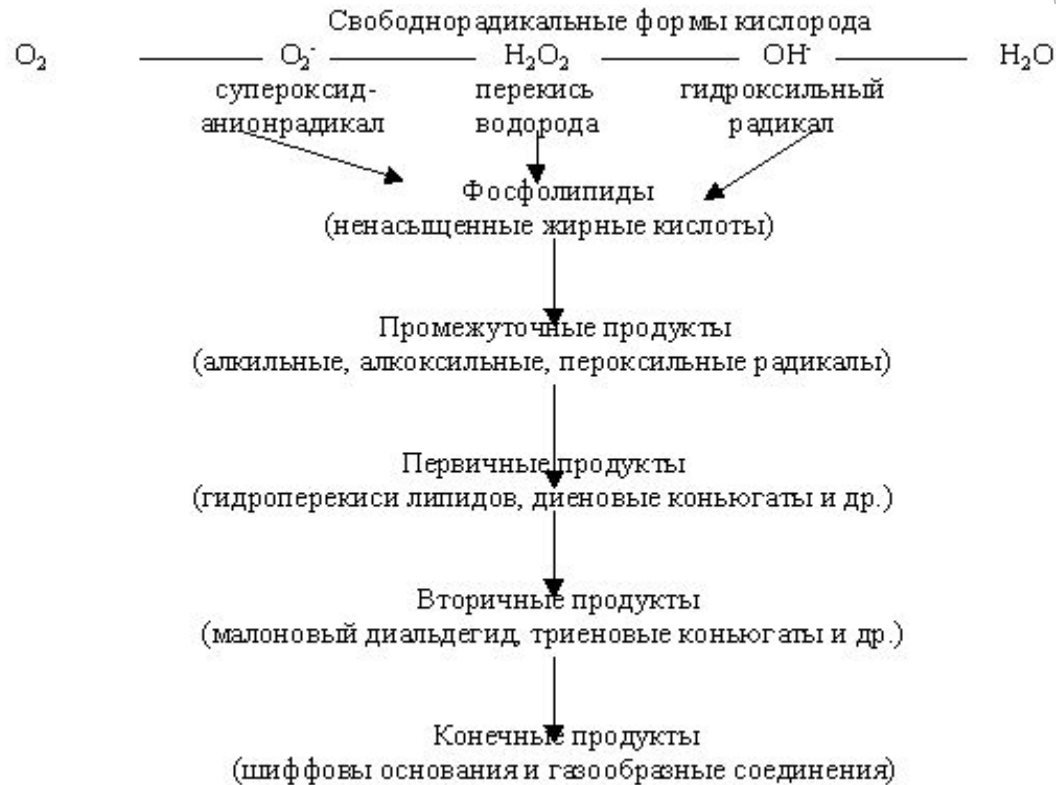
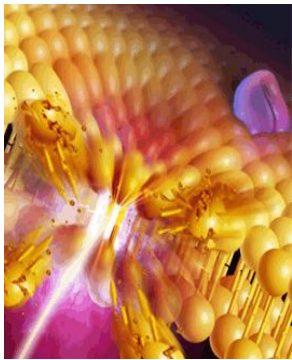
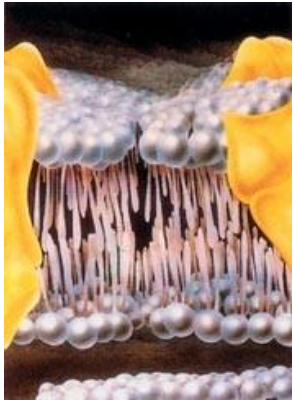


# Активные формы кислорода запускают процесс перекисного окисления

- ▶ Основным субстратом ПОЛ являются полиненасыщенные цепи жирных кислот (ВЖК **липидов (ПОЛ)**), входящие в состав клеточных мембран, а также липопротеинов.
- ▶ Их атака кислородными радикалами приводит к образованию гидрофобных радикалов, взаимодействующих друг с другом.
- ▶ В результате атаки АФК жирных кислот изменяются свойства мембран (выжигаются дыры) и образуется конечный продукт малоновый диальдегид, который может вызывать денатурацию белков путем их сшивки.



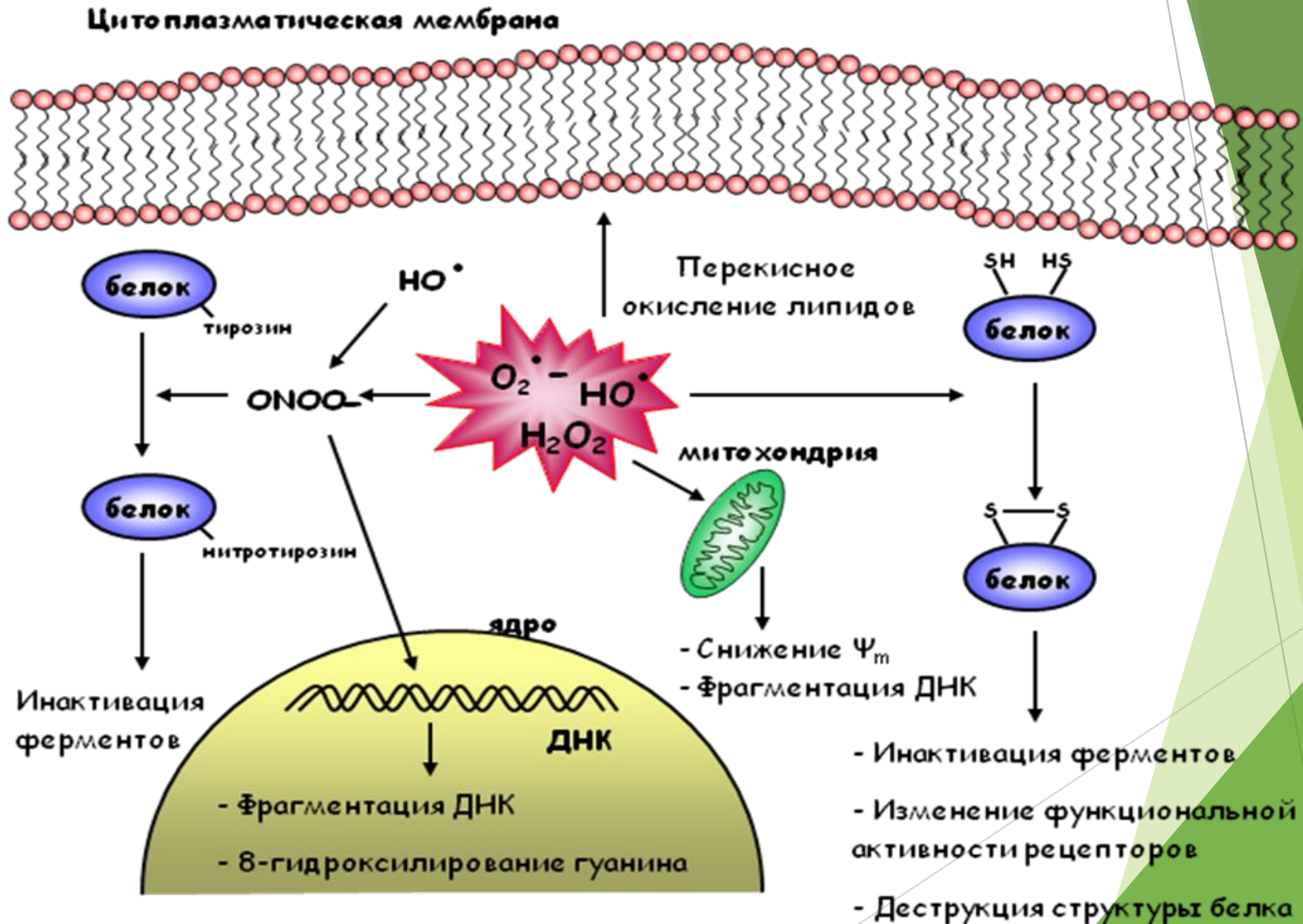
# ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ



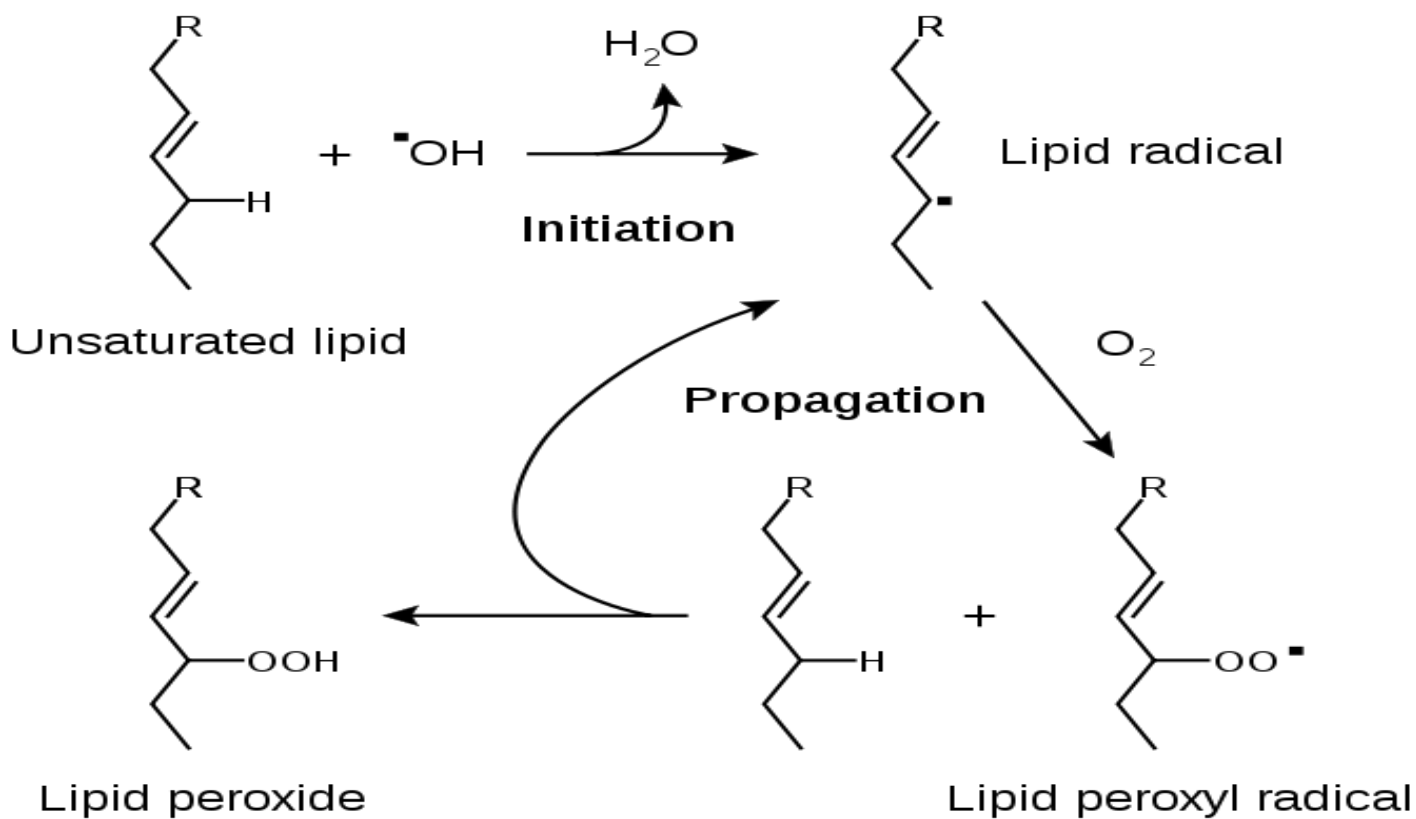
Малоновый диальдегид

**Перекисное окисление липидов (ПОЛ)** является важной причиной накопления клеточных дефектов. Основным субстратом ПОЛ являются полиненасыщенные жирные кислоты, входящих в состав клеточных мембран, а также липопротеинов. Атака кислородными радикалами приводит к образованию гидрофобных радикалов. Образующиеся липидные радикалы, а также **4-гидроксиноненаль** и **малоновый диальдегид** могут атаковать молекулы белков и нуклеиновых кислот. Альдегидные группы этих соединений образуют межмолекулярные сшивки, что сопровождается нарушением структуры макромолекул и их функций.

# ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ СТРЕСС И ДЕСТРУКЦИЯ КЛЕТКИ



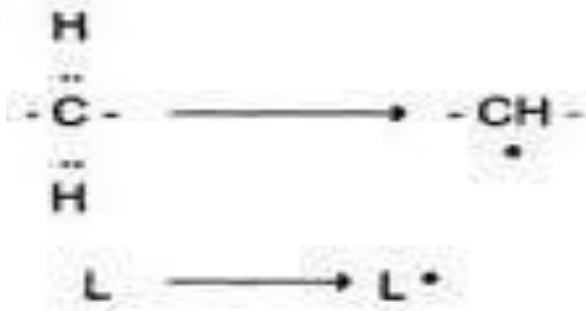
# Реакции ПОЛ являются свободнорадикальными и постоянно протекают в клетки



# Первая стадия - инициация образования свободного радикала

Вначале происходит атака сопряженных двойных связей ненасыщенных жирных кислот гидроксильным радикалом, что приводит к появлению липидных радикалов

:



# Вторая стадия - развитие цепи

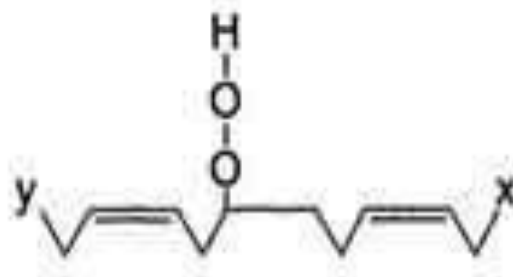
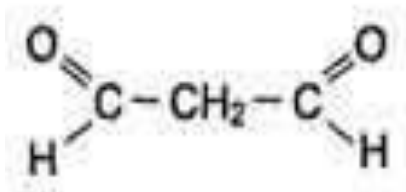
- ▶ Липидный радикал может реагировать с O<sub>2</sub> с образованием **липоперокси радикала**, который, в свою очередь, взаимодействует с новыми молекулами ненасыщенных жирных кислот и приводит к появлению **липидных пероксидов**, которые достаточно стабильны при температуре тела:



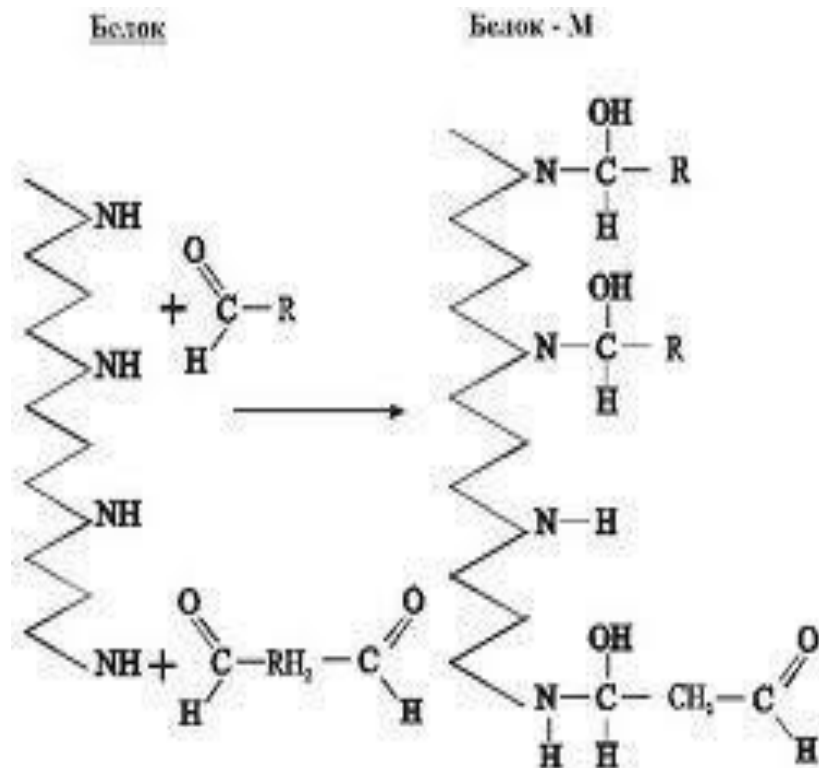
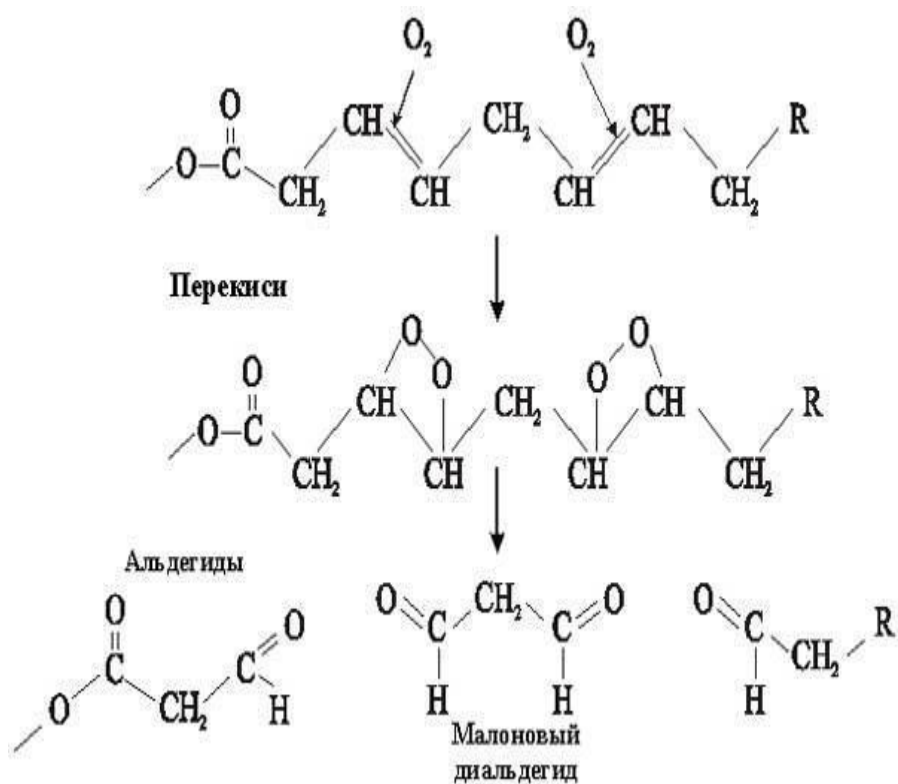


# Третья стадия- разрушение структуры липидов

- ▶ Образующиеся липидные радикалы , а также малоновый диальдегид (МДА), могут атаковать молекулы белков и нуклеиновые кислоты. Альдегидные группы этих соединений образуют межмолекулярные сшивки, что сопровождается нарушением структуры макромолекул и дезорганизует их



# Образование МДА и сшивок между белками за счет МДА



# Обрыв цепи - взаимодействие радикалов между собой:

- ▶  $LOO\bullet + L\bullet \rightarrow LOOH + LH$
- ▶  $L\bullet + vit E \rightarrow LH + vit E\bullet$
- ▶  $vit E\bullet + L\bullet \rightarrow LH + vit E_{окисл.}$
- ▶ Развитие цепи может останавливаться при взаимодействии свободных радикалов между собой или при взаимодействии с различными антиоксидантами, например, витамином E, который отдаёт электроны, превращаясь при этом в стабильную окисленную форму.

## ***АФК выполняют полезные функции.***

- ▶ ***Активные формы кислорода необходимы организму, они участвуют во многих физиологических процессах, выполняя полезные функции:***
- ▶ ***1. Бактерицидную, лейкоциты с участием АФК разрушают фагоцитированные клетки бактерий, НАДФН-оксидаза нейтрофилов;***
- ▶ ***2. Иммунную - активирование иммунной реакции в лейкоцитах;***
- ▶ ***3. Регуляторную (сигнальные молекулы), до конца механизм не изучен.***

# **В организме существует система защиты клеток от АФК (система тушения АФК ) или Антиоксидантная система (АОС)**

*Антиоксиданты – это молекулы, которые способны блокировать реакции свободнорадикального окисления, восстанавливая разрушенные соединения.*

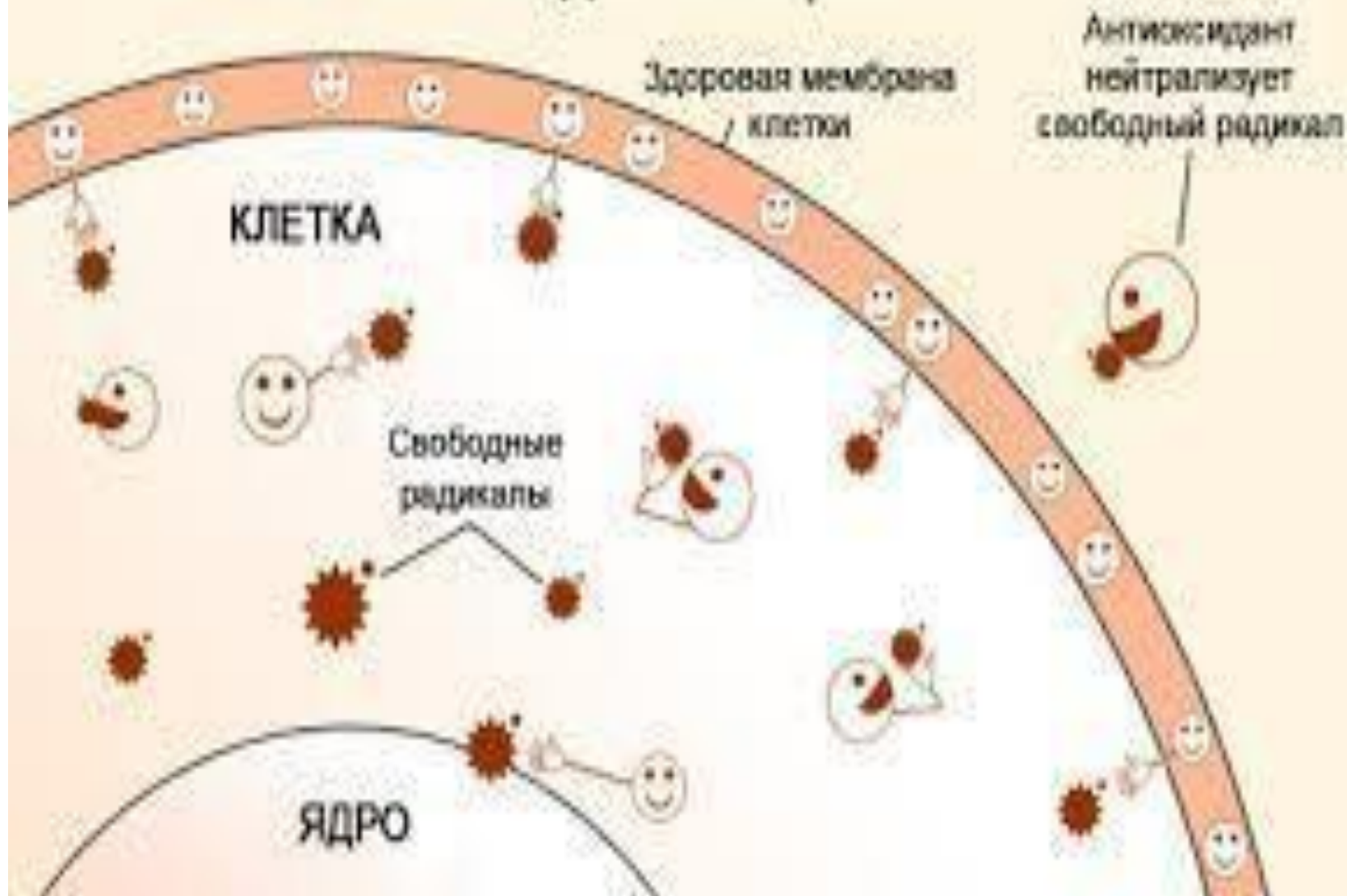
*Антиоксидантная система (АОС) включает:*

- ▶1. Ферменты антиоксидантного действия;*
- ▶2. Витамины, обладающие антиоксидантным действием.*
- ▶3. Биофлавоноиды ( рутин, кверцетин, цитрин, гесперидин, аскорутин), серосодержащие аминокислоты (глутатион, цистеин, метионин), цитохром С, микроэлементы - селен, цинк и др.*





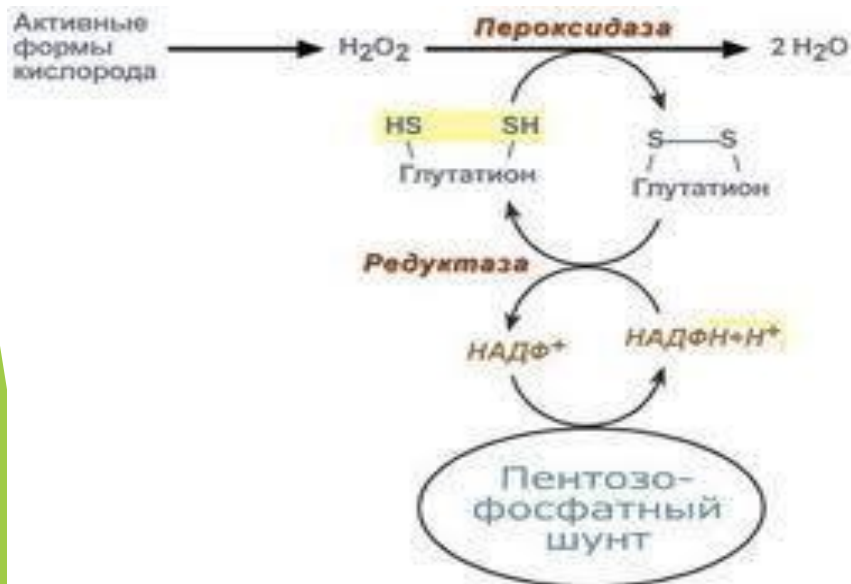
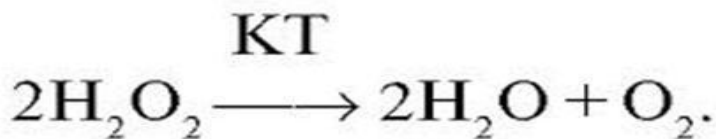
# Антиоксиданты за работой



## **Ферменты антиоксидантного действия: супероксиддисмутаза (СОД), каталаза и глутатионпероксидаза.**

- ▶ **СОД и каталаза образуют антиоксидантную пару, которая борется со свободными радикалами кислорода, не давая им возможности запустить процессы цепного окисления.**
- ▶ **Глутатионпероксидаза обезвреживает липидные перекиси, обрывая тем самым цепное перекисное окисление липидов. Для работы глутатионпероксидазы необходим селен.**

# Угроза для клеток со стороны активных радикалов устраняется действием ряда ферментов.



СОД катализирует дисмутацию супероксида в кислород и пероксид водорода. Таким образом, она играет важнейшую роль в антиоксидантной защите практически всех клеток, так или иначе находящихся в контакте с кислородом.

Каталаза предотвращает накопление в клетке перекиси водорода.

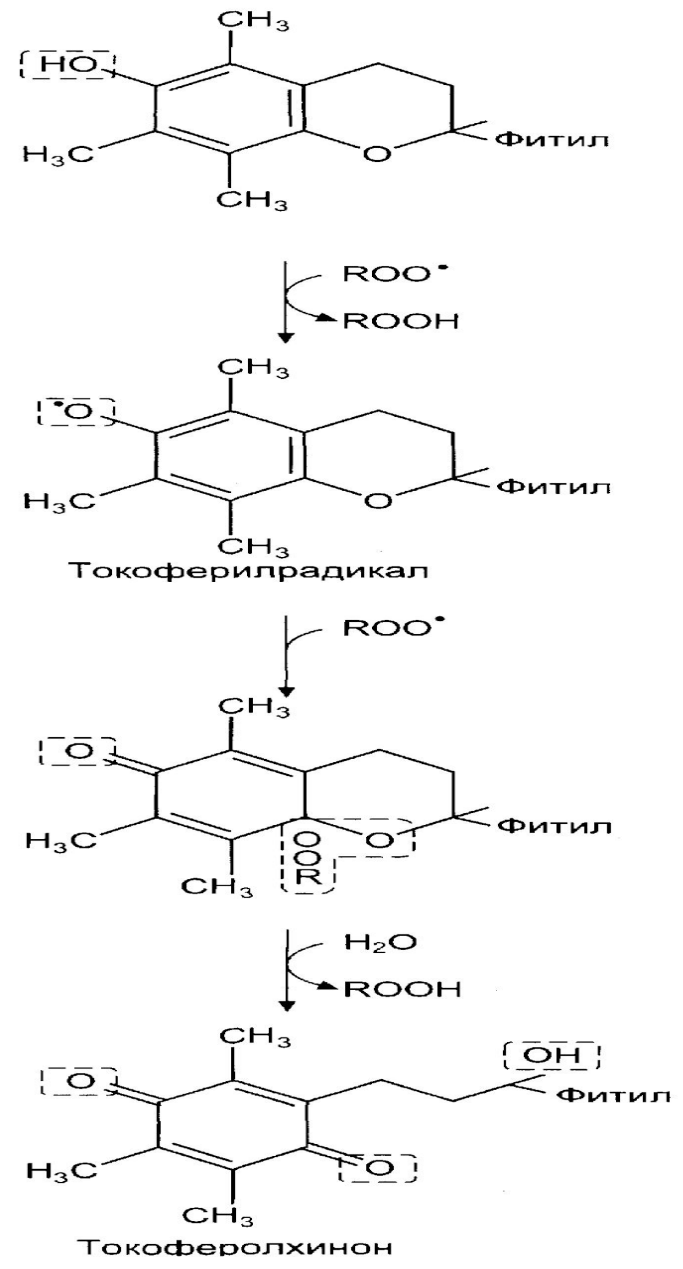
В печени, почках, нейтрофильных лейкоцитах обнаруживается пероксидазная активность.

# Витамины, обладающие антиоксидантным действием

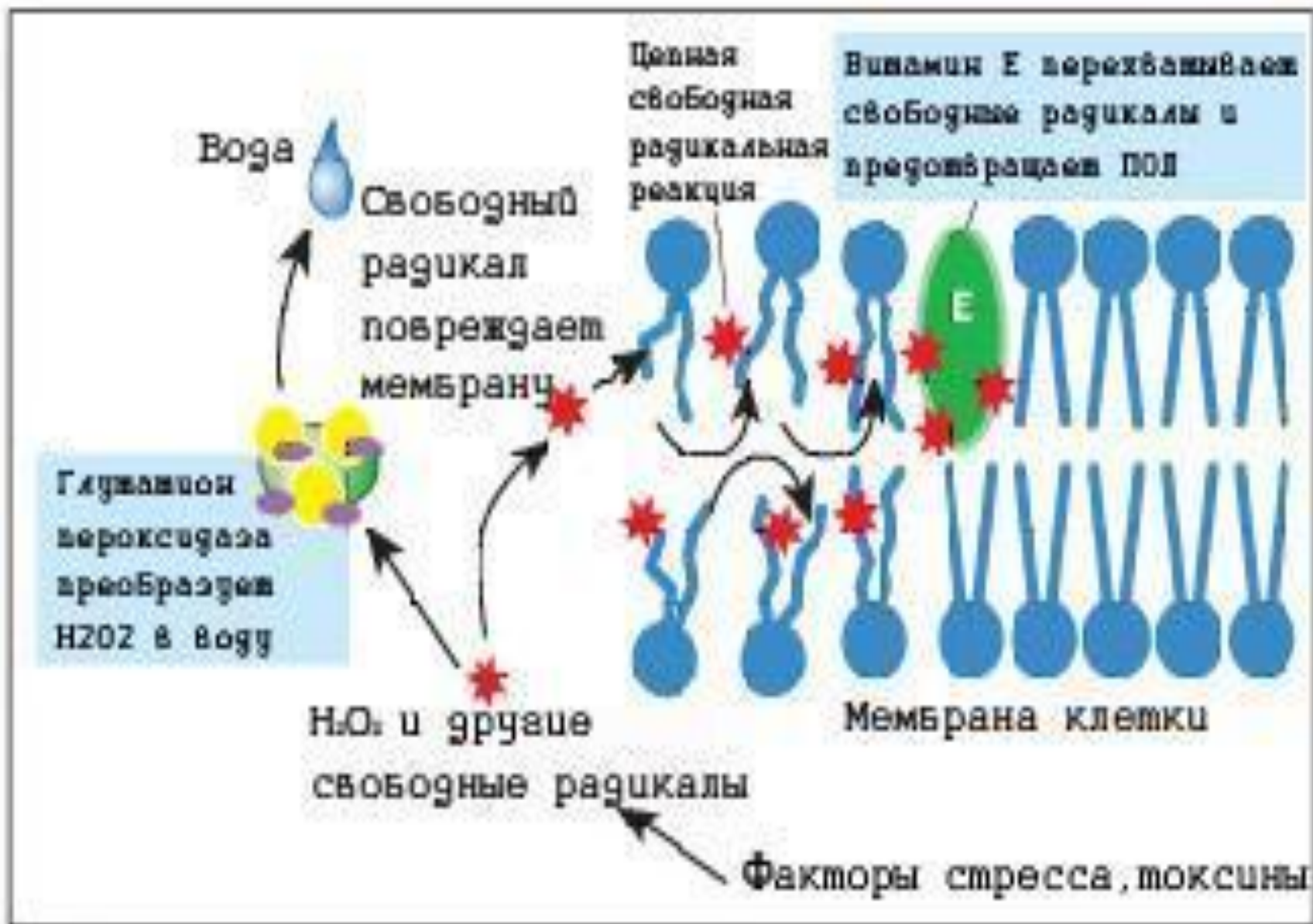
- ▶ 1. Витамины группы E (токоферолы)
- ▶ 2. Аскорбиновая кислота (витамин C)
- ▶ 3. Ретинол (витамин A) и В-каротин (провитамин A)
- ▶ Антиоксиданты работают хорошо только тогда, когда они работают в группе, поддерживая друг друга.
- ▶ Например: Витамин E - главный прерыватель реакций окисления липидов, расходуется и видоизменяется в этих реакциях. Если рядом с ним находится витамин C, то он его восстанавливает и вводит в строй



► **Витамин E ингибирует свободнорадикальное окисление путем отдачи электрона, что приводит к инактивации радикала липида. Витамин E превращается в стабильное соединение.**







ПОЛ – перекисное окисление липидов



# **Пероксидазы, каталазы, оксигеназы и оксидазы относятся к классу ферментов - оксидоредуктаз**

- ▶ **Оксигеназы - это ферменты, катализирующие активирование  $O_2$  и последующее включение 1 (монооксигеназы) или 2 (диоксигеназы) его атомов в молекулы различных субстратов.**
- ▶ **Если субстратом (акцептором  $O_2$ ) служит водород, фермент называют оксидазой.**
- ▶ **В этом смысле оксидазы можно рассматривать как специализированный класс оксигеназ.**
- ▶ **Оксигеназы участвуют во внемитохондриальном окислении.**

# Понятие об оксидазном и оксигеназном типе окисления

- ▶ 80% кислорода используется на оксидазный тип - это первый тип окисления, т.е. когда атом кислорода восстанавливается 2 электронами, или молекула кислорода 4-мя электронами. Например: супероксиддисмутаза и оксидазы аминокислот.
- ▶ 20% O<sub>2</sub> используется на оксигеназный тип окисления, идет по 2 путям - монооксигеназному и диоксигеназному. Монооксигеназный путь происходит в митохондриях и микросомах.
- ▶ В митохондриях происходит гидроксилирование (при участии НАДФН<sub>2</sub>, ).
- ▶ В микросомальном окислении участвует мультиферментная мембраносвязанная система, включающая НАДФН<sub>2</sub>, особые ФП и цхР450.

# **Биологическое значение окисления по оксидазному типу:**

- ▶ *Окисляются трудноокисляемые циклические вещества;*
- ▶ *Быстрая инаktivация БАВ - биологически активных веществ;*
- ▶ *Образующаяся  $H_2O_2$  оказывает бактерицидное действие - разрушает клеточные мембраны фагоцитированных бактериальных клеток.*