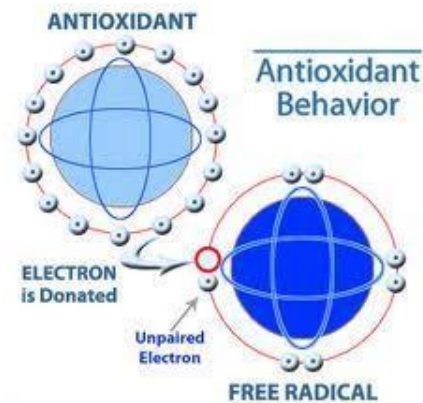
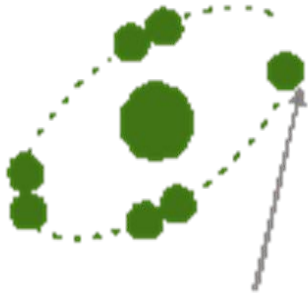


**Активные формы
кислорода.
Антиоксидантная
защитная система.
Перекисное окисление
липидов.**



Свободные радикалы.

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



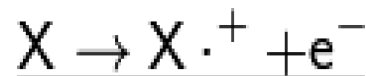
Неспаренный электрон

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

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

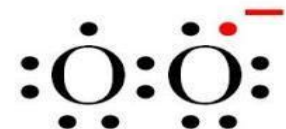


Спаренные электроны

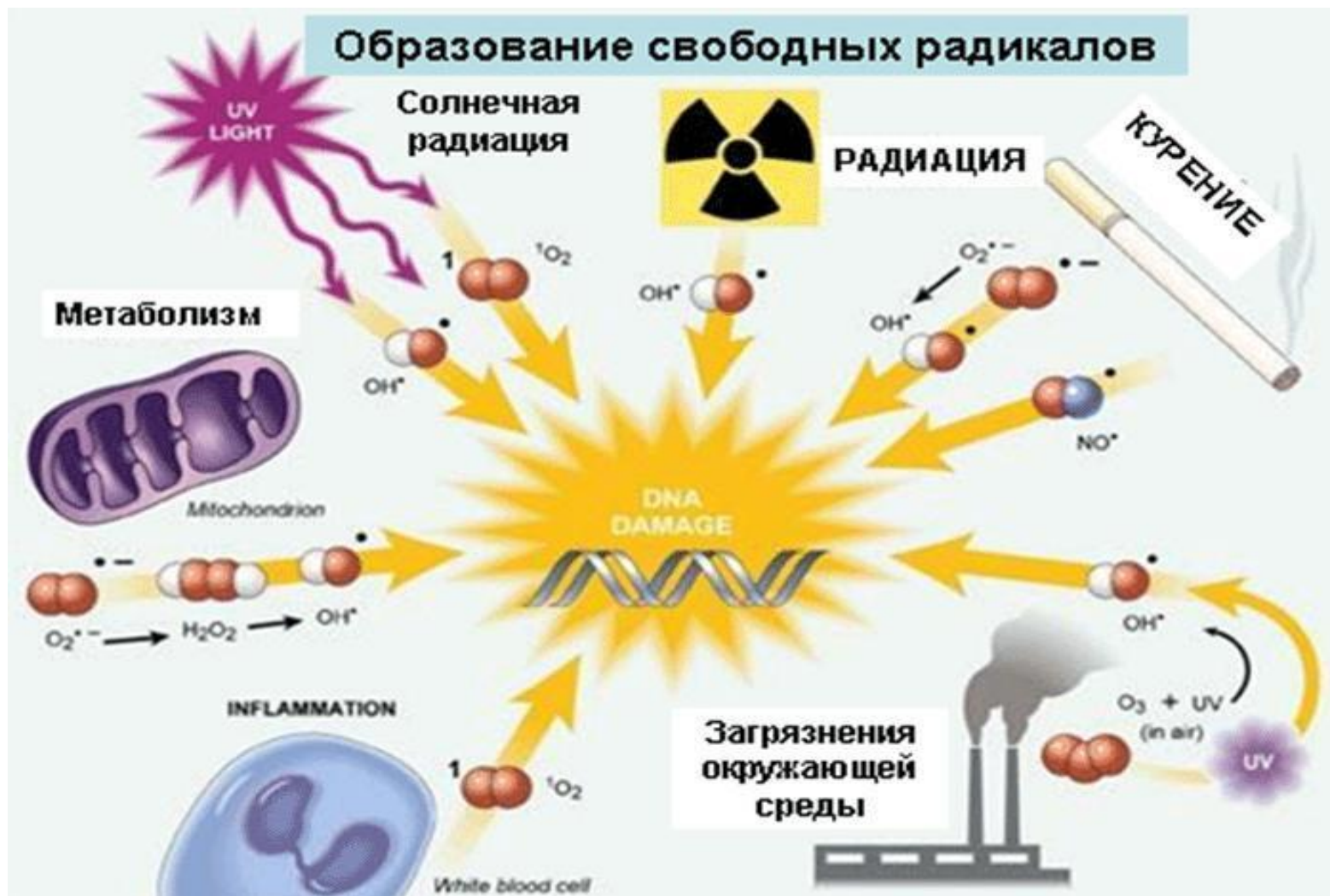


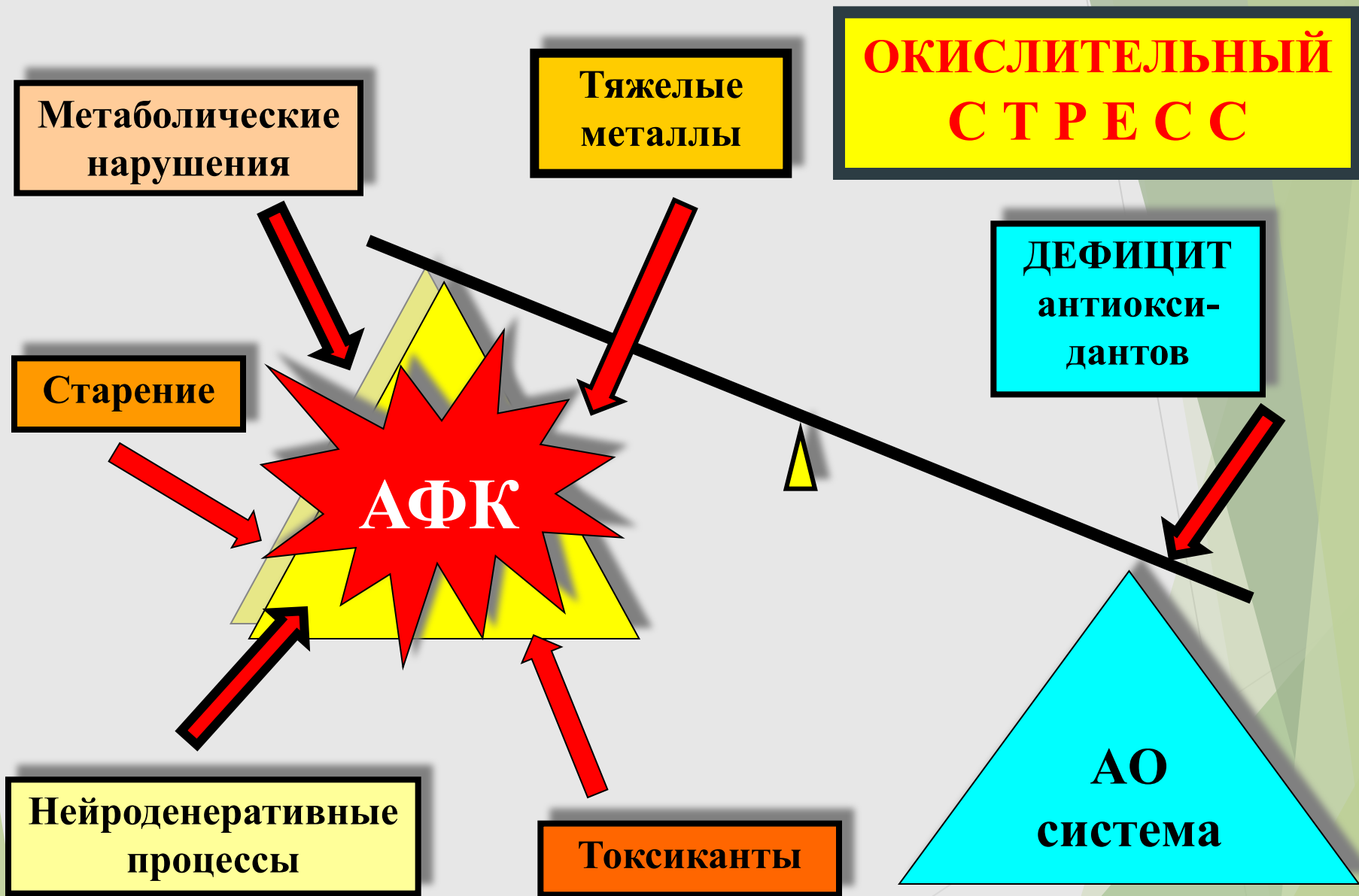
Кислородные свободные радикалы называют также активными формами кислорода (АФК)

- ▶ 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.*

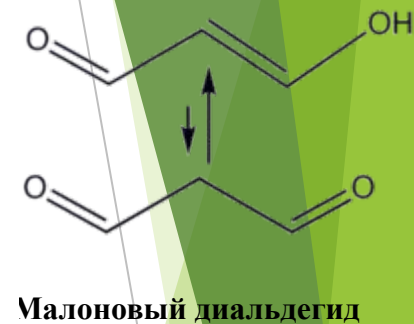
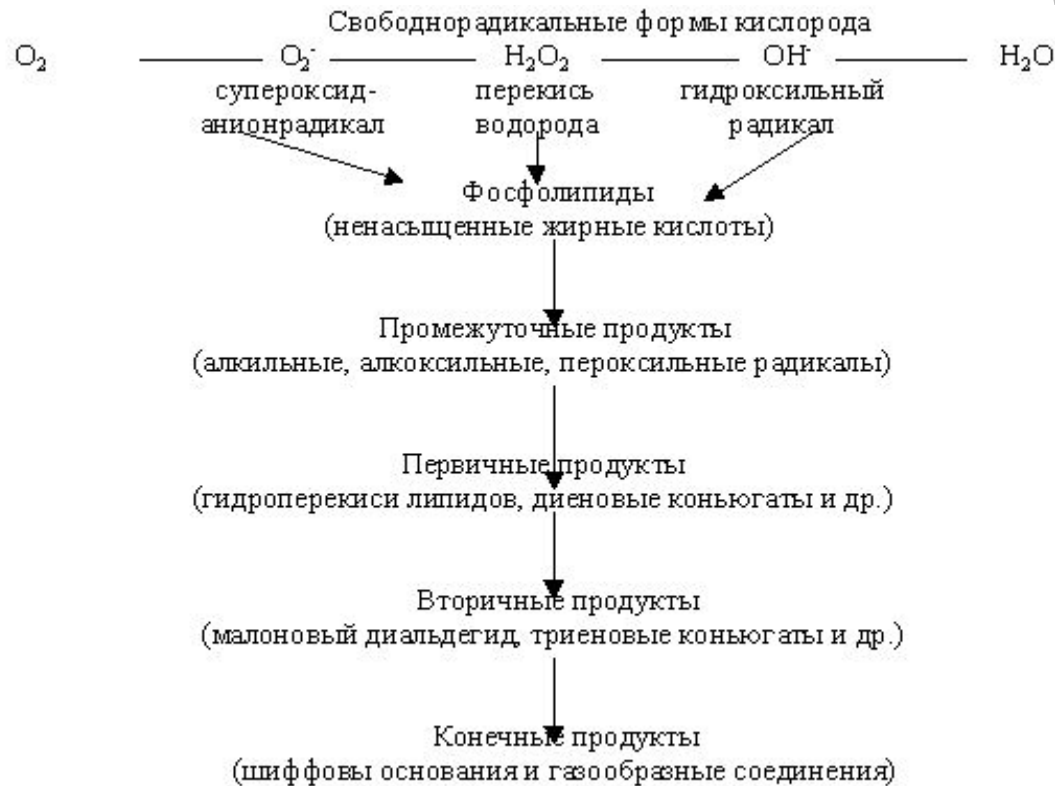
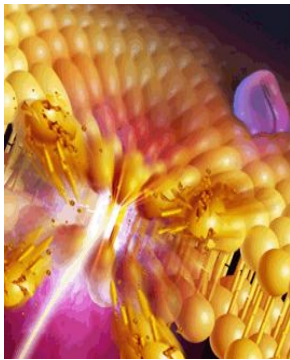


Факторы, вызывающие образование АФК



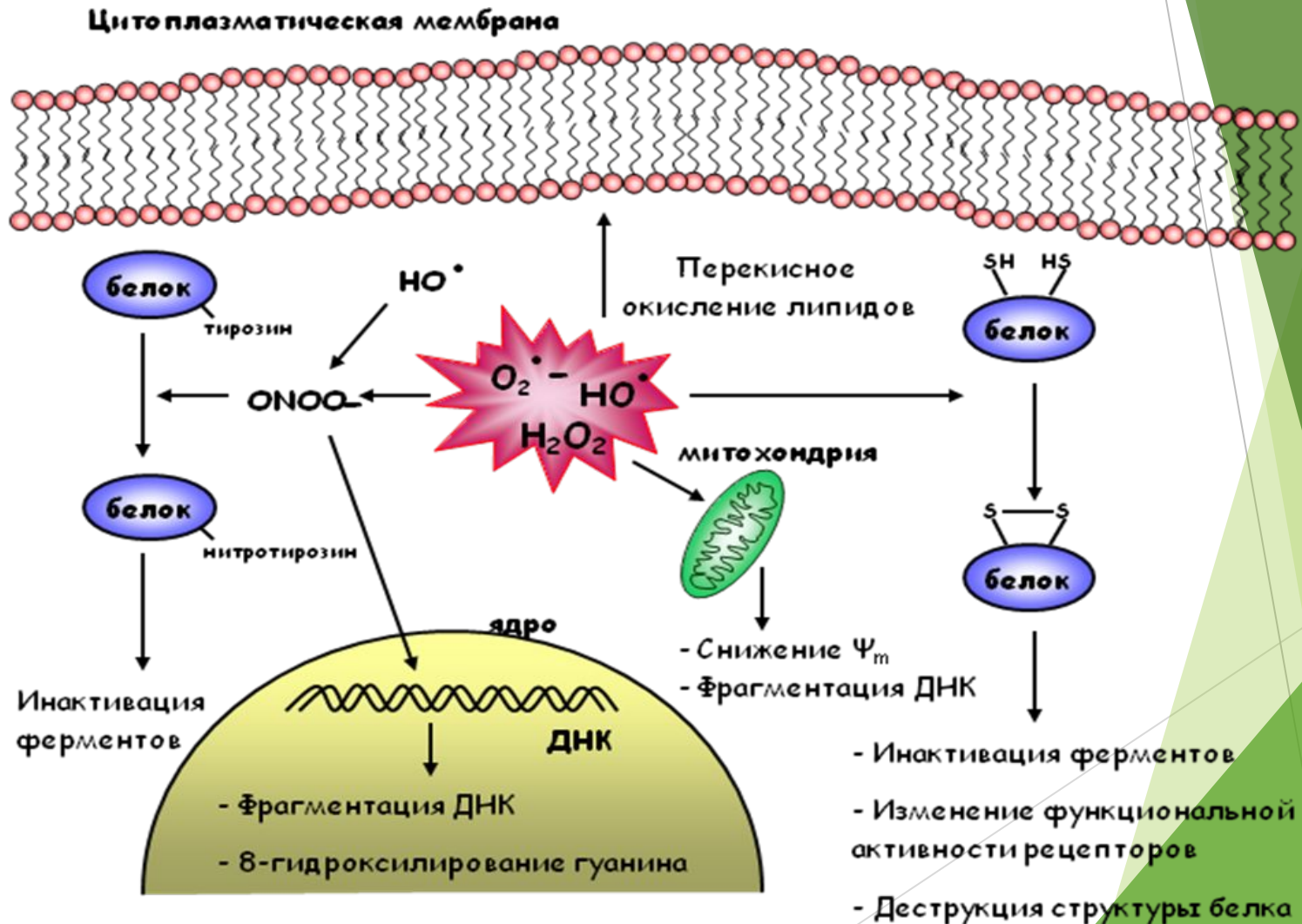


ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ



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



К активным формам кислорода относятся:



Основные АФК:

OH - радикал, гидроксильный радикал;

O_2^- - супероксидный анион;

H_2O_2 - пероксид водорода.

Важнейшими АФК также считаются :

- синглетный кислород ($^1\text{O}_2$),

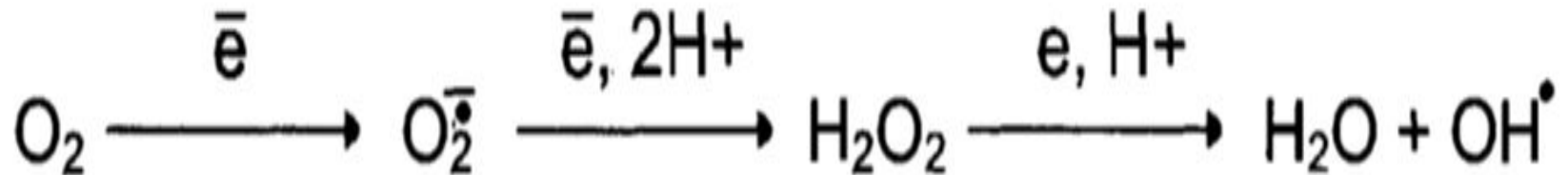
- пергидроксил (HO_2),

- гипохлорит анион (ClO^-),

- пероксинитрат (ONOO^-).

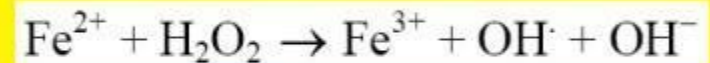
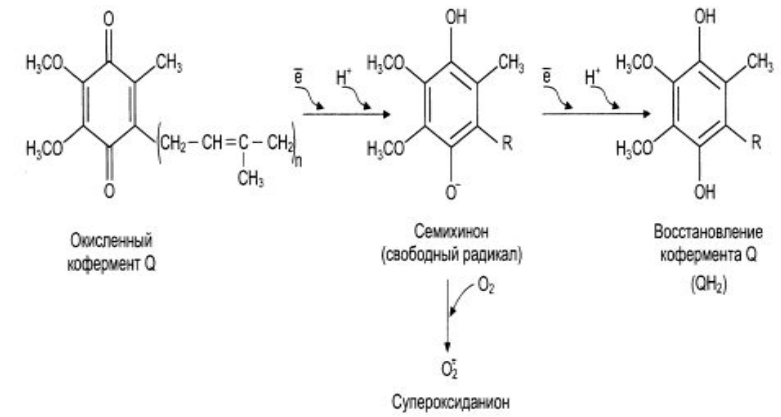
Как же образуются АФК?

- ▶ 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

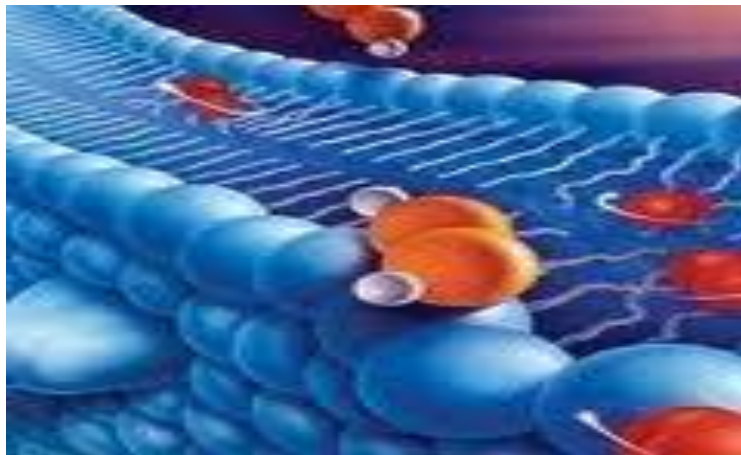
Дыхательная цепь митохондрий, NADPH-оксидаза нейтрофилов, микросомальное окисление, неферментативное окисление биогенных аминов

ТУШЕНИЕ
АФК

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

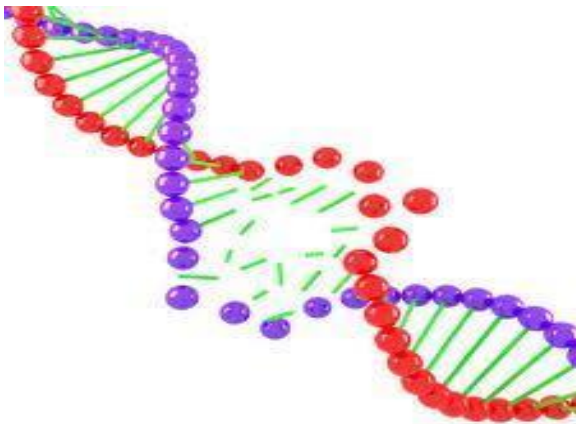
Что происходит если нарушается равновесие между образованием и тушением АФК. Высокий уровень АФК приводит к образованию окислительного стресса (активируется ПОЛ), который может вызвать апоптоз клетки или некроз ткани.

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.



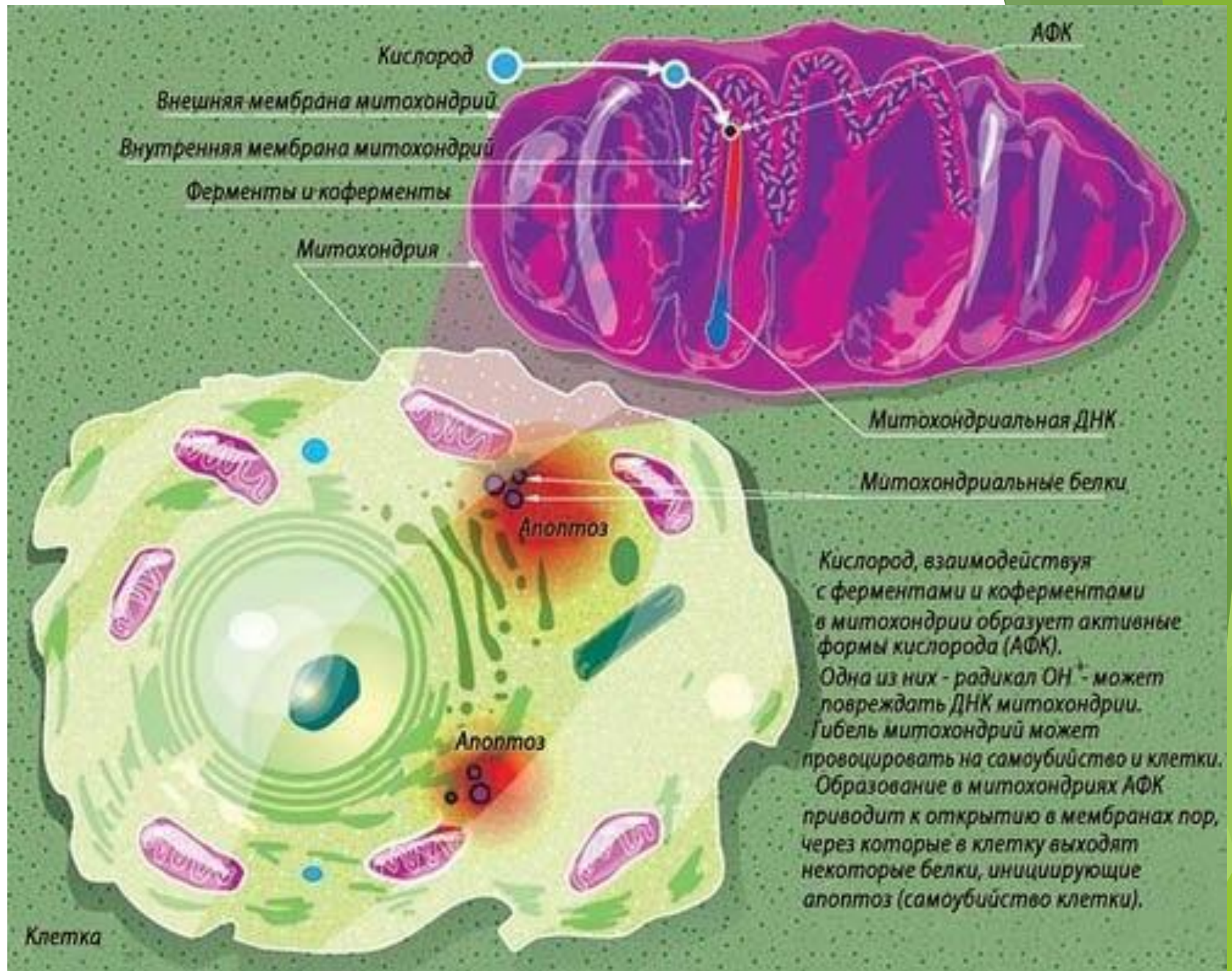
Повреждающее действие АФК

- ▶ **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

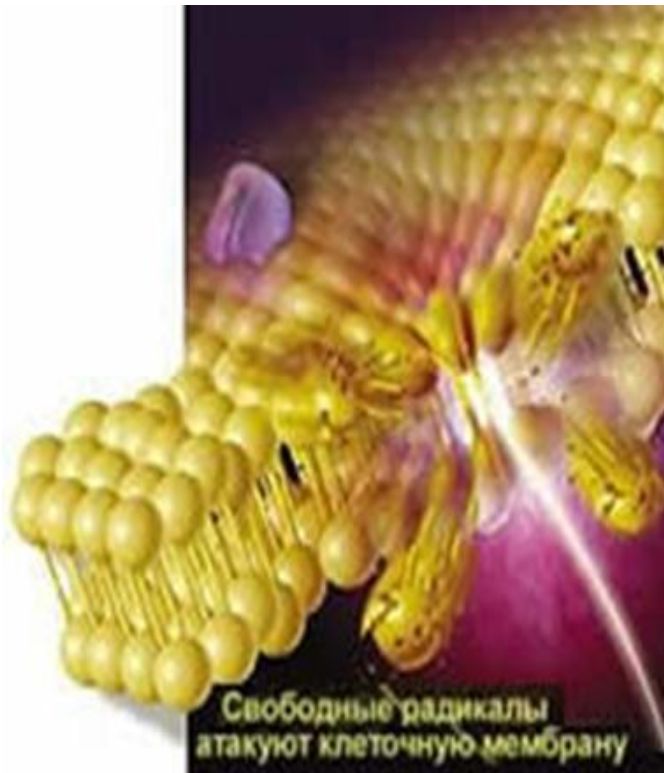
Кислород, взаимодействуя с ферментами и коферментами в митохондрии образует активные формы кислорода (АФК). Одна из них - радикал OH^\bullet - может повреждать ДНК митохондрии. Гибель митохондрий может провоцировать на самоубийство и клетки. Образование в митохондриях АФК приводит к открытию в мембранах 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

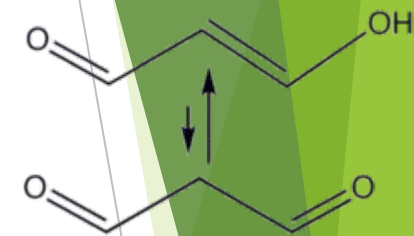
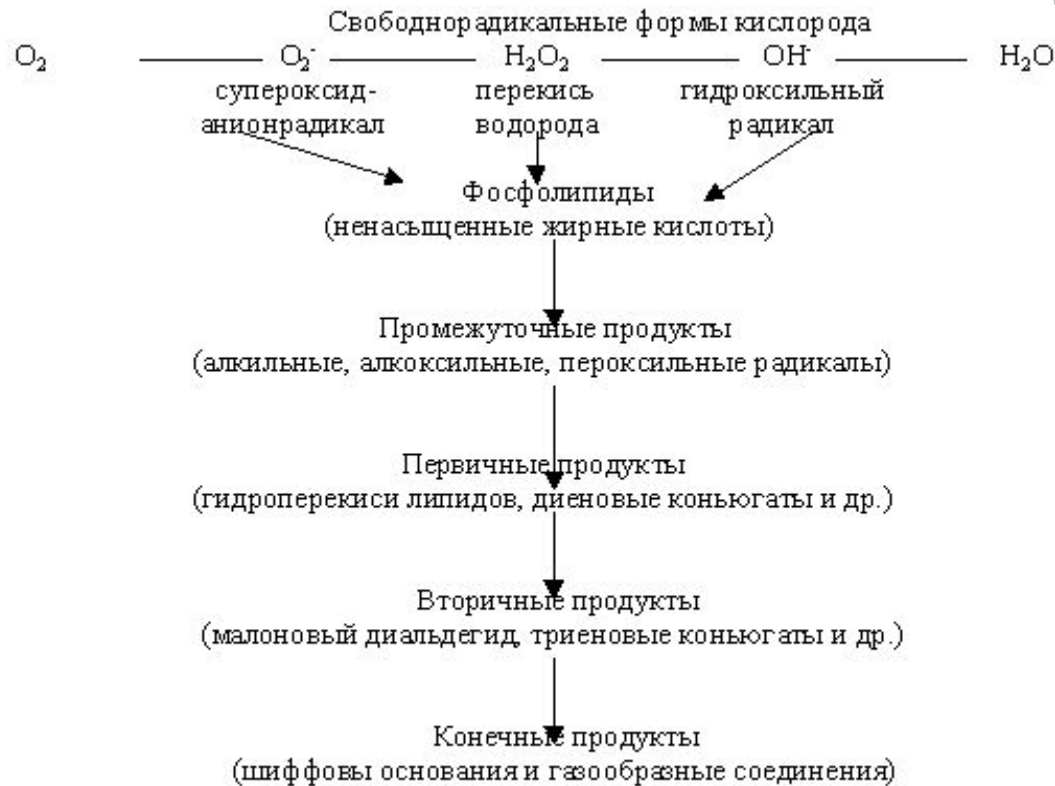
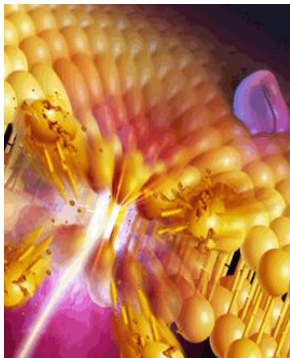
Эти изменения нарушают
жизнедеятельность клетки и приводят ее к
гибели.



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.

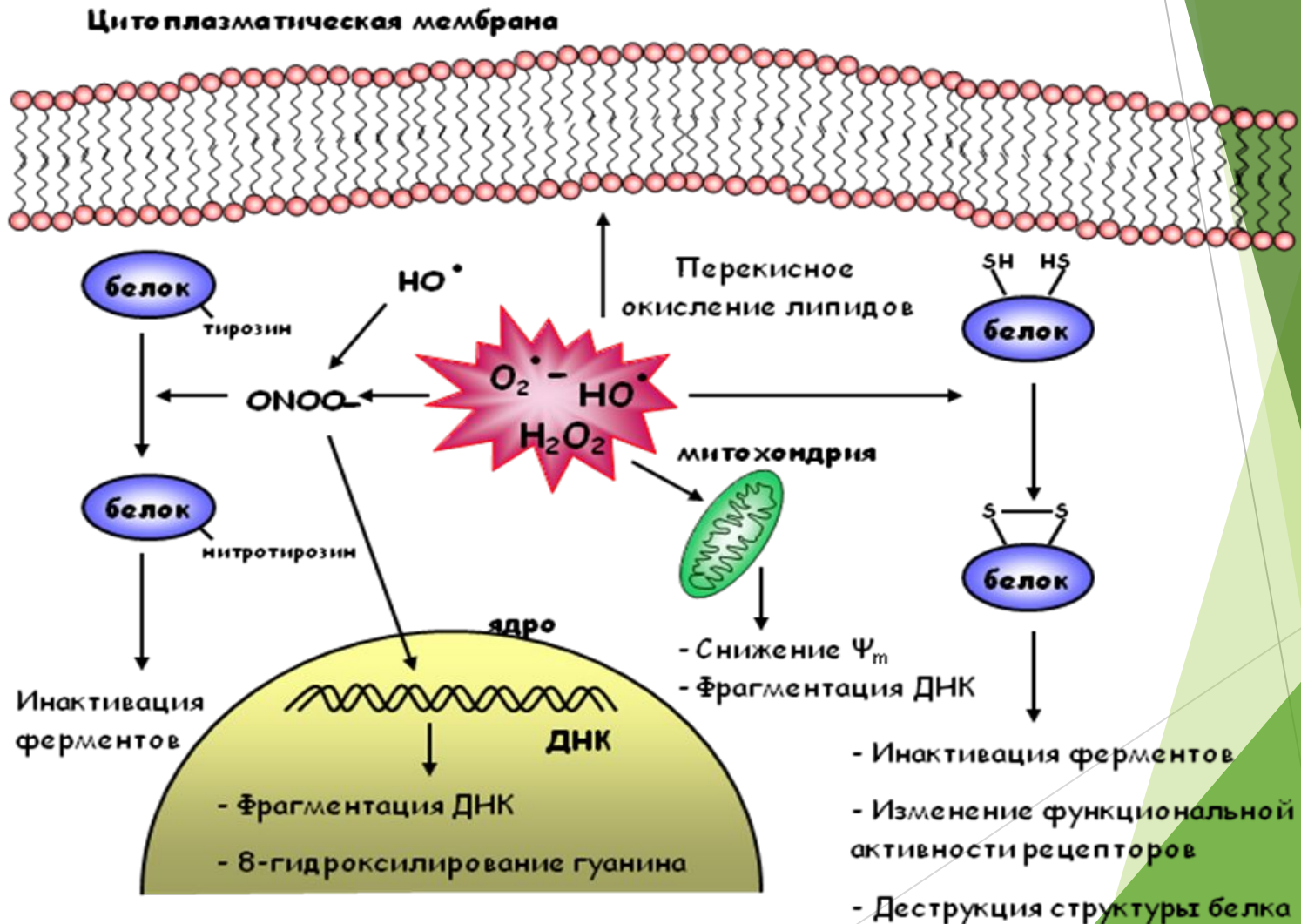
ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ



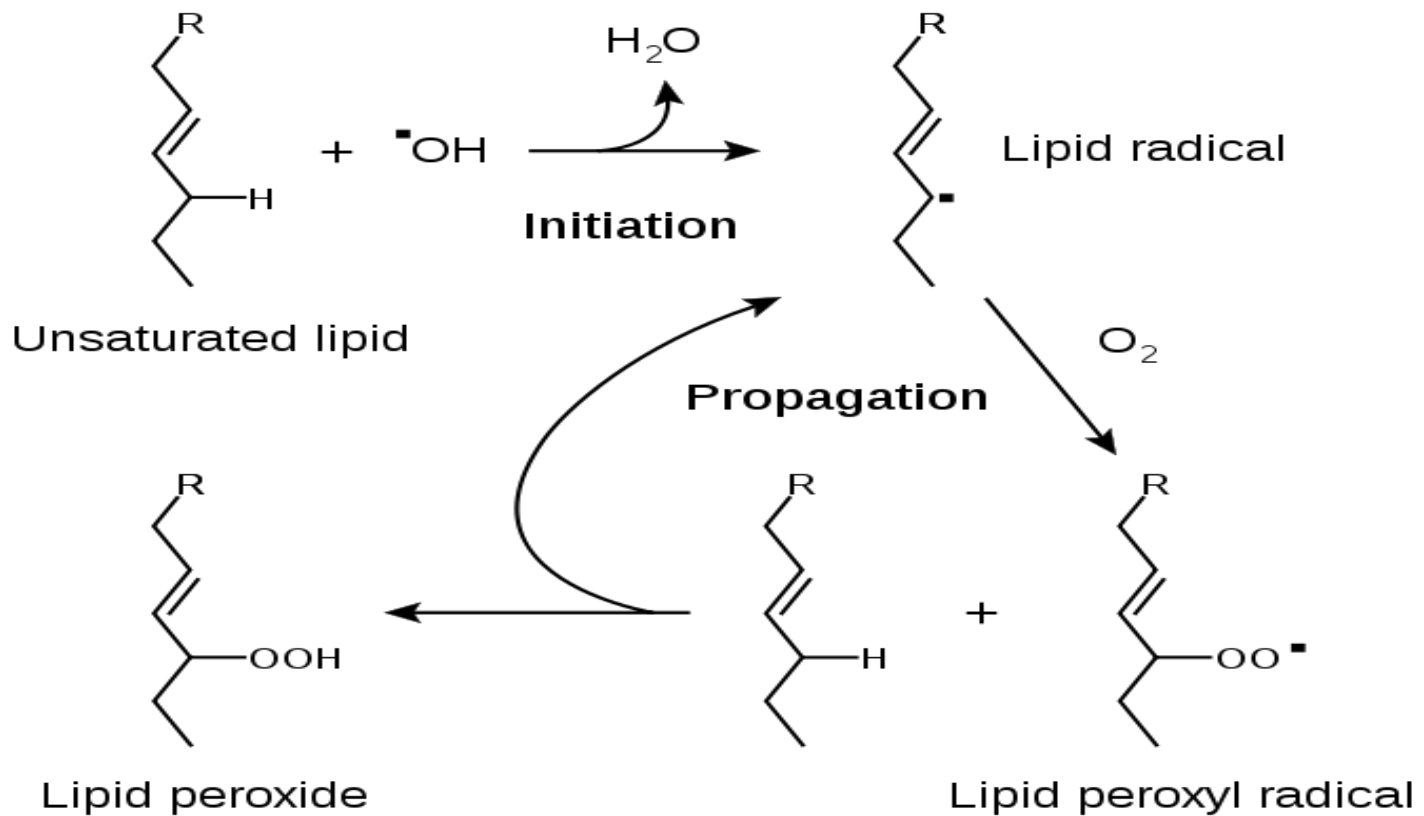
Малоновый диальдегид

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



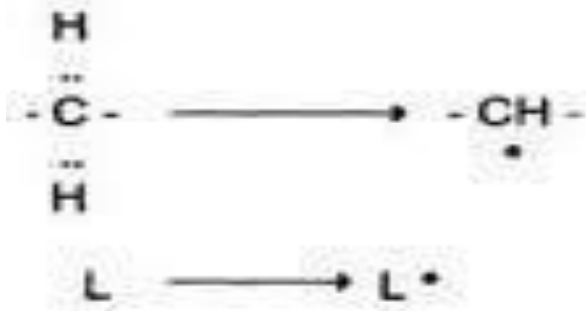
Реакции ПОЛ являются свободнорадикальными и постоянно протекают в клетки



Первая стадия - инициация образования свободного радикала

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

:



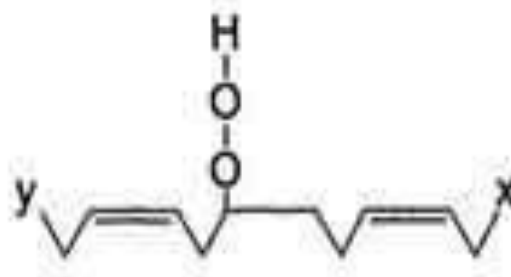
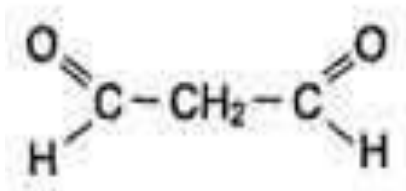
Вторая стадия - развитие цепи

- ▶ Липидный радикал может реагировать с O₂ 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:

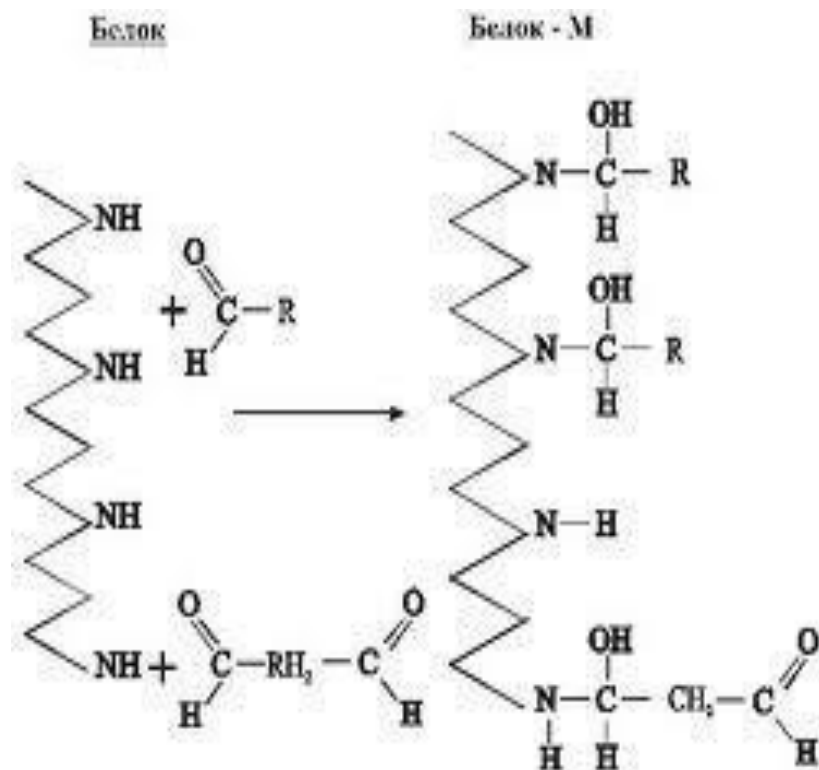
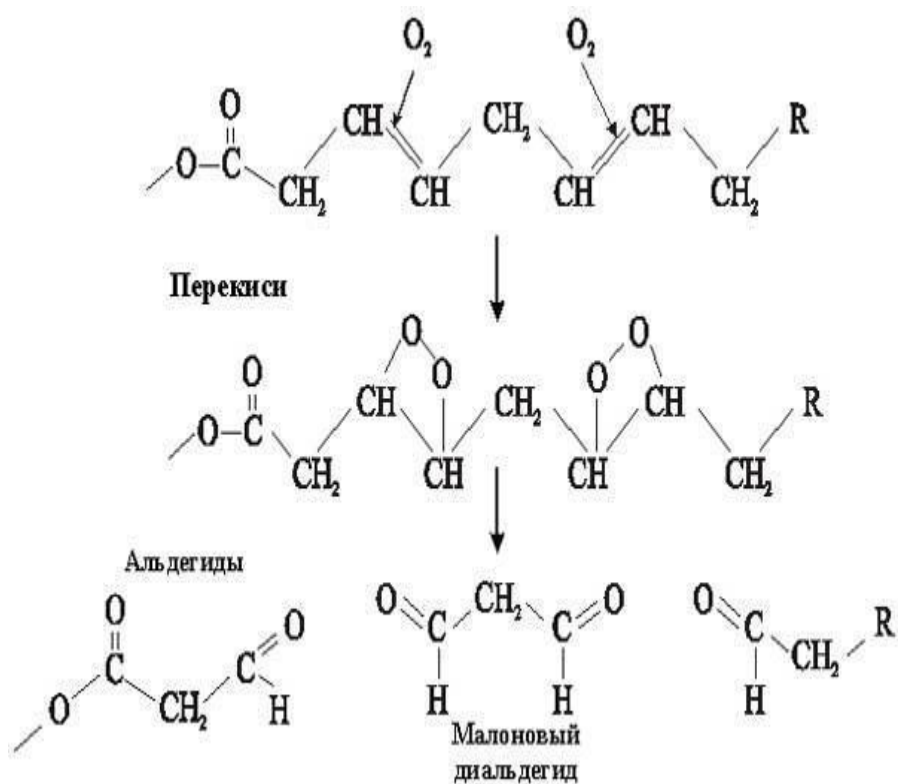


Третья стадия- разрушение структуры липидов

- ▶ 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:

- ▶ $LOO\cdot + L\cdot \rightarrow LOOH + LH$
- ▶ $L\cdot + vit E \rightarrow LH + vit E\cdot$
- ▶ $vit E\cdot + L\cdot \rightarrow LH + vit E_{окисл.}$
- ▶ 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)

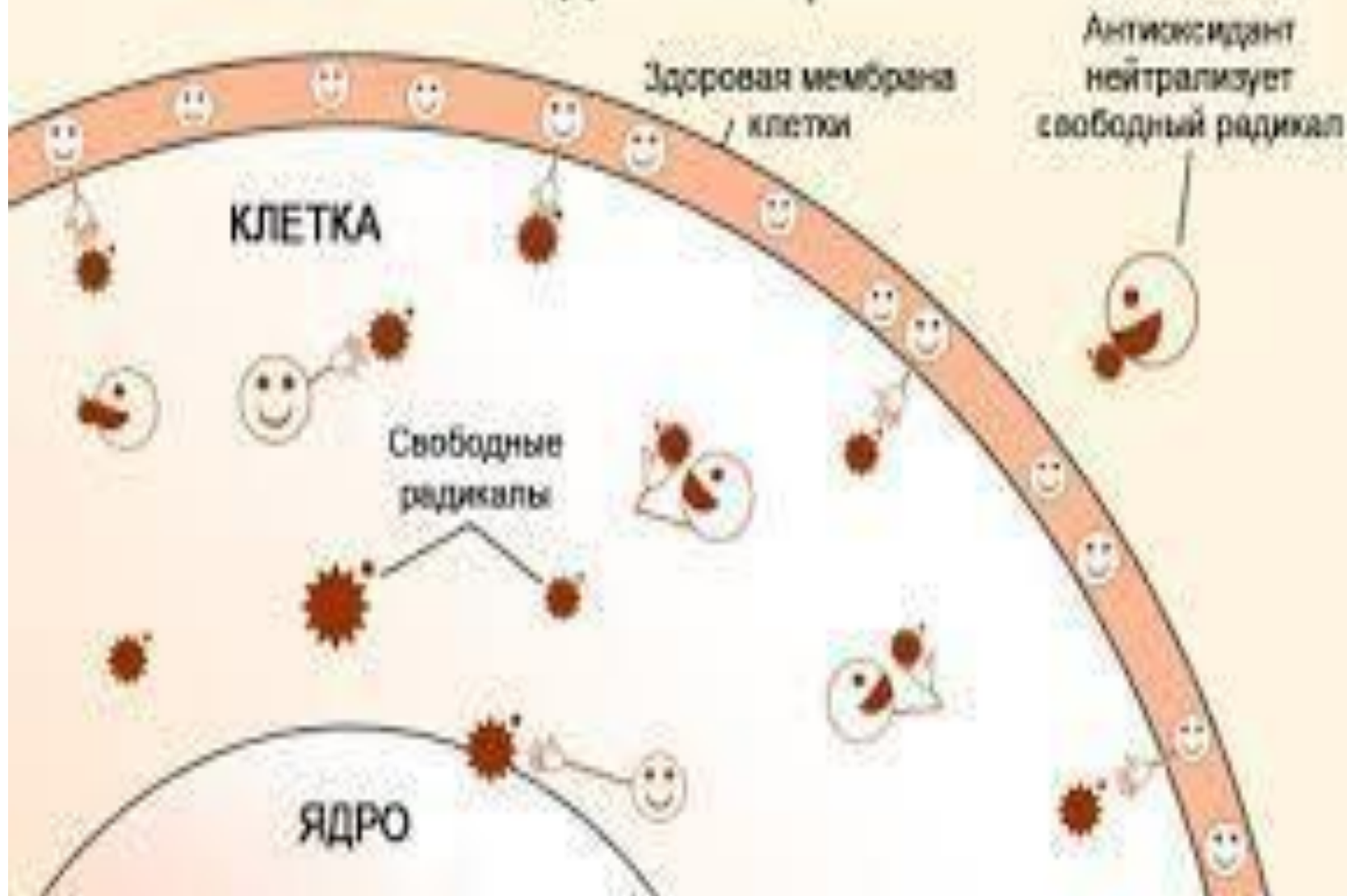
Антиоксиданты – это молекулы, которые способны блокировать реакции свободнорадикального окисления, восстанавливая разрушенные соединения.

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.*



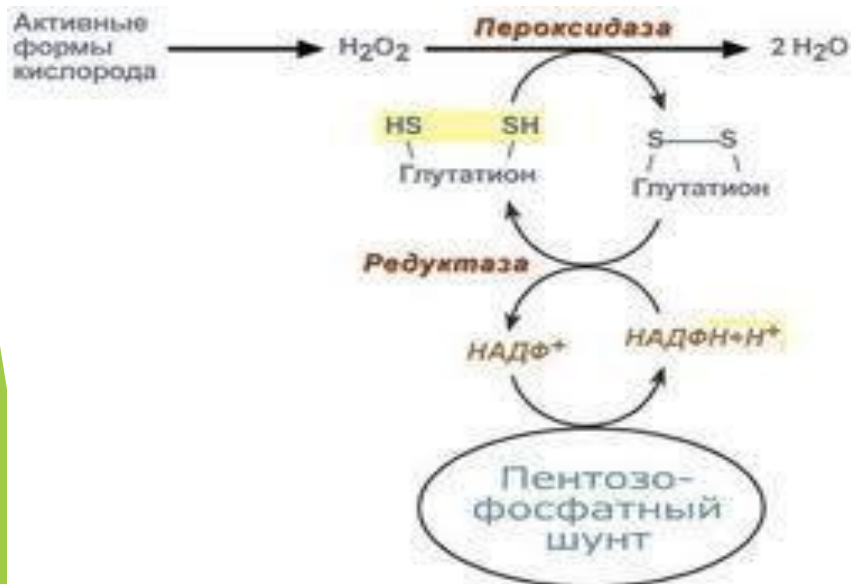
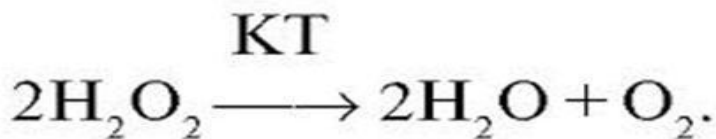
Антиоксиданты за работой



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.

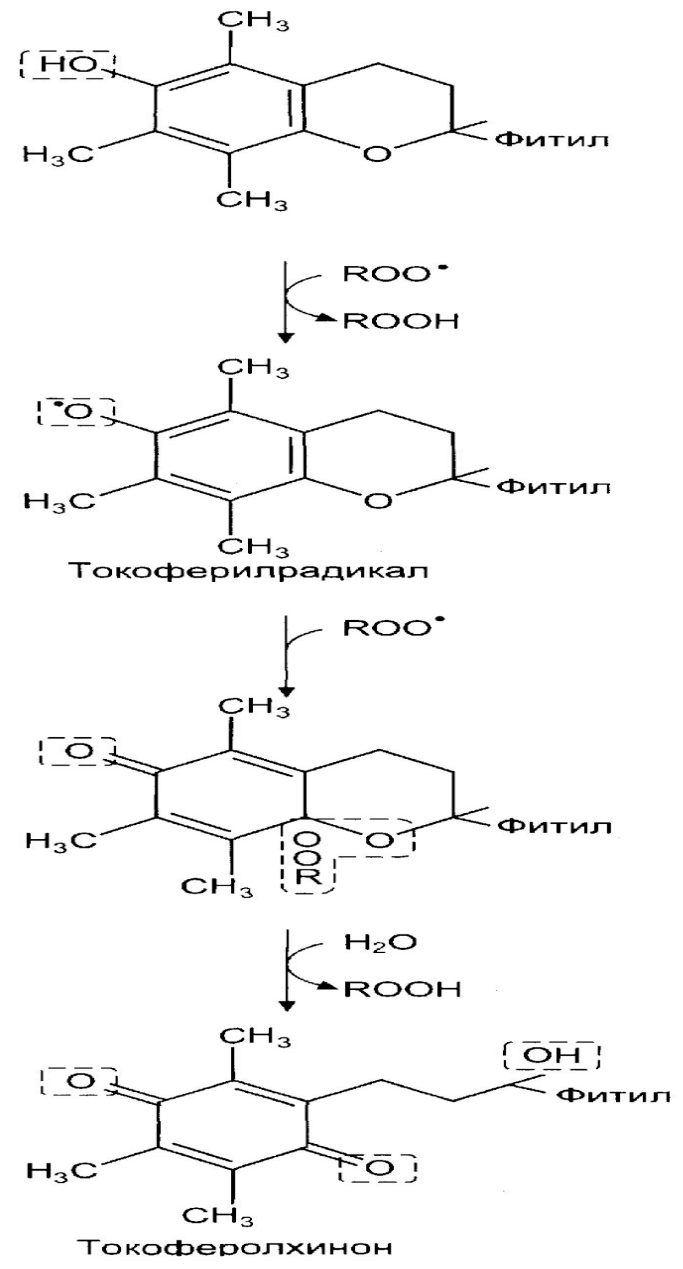
В печени, почках, нейтрофильных лейкоцитах обнаруживается пероксидазная активность.

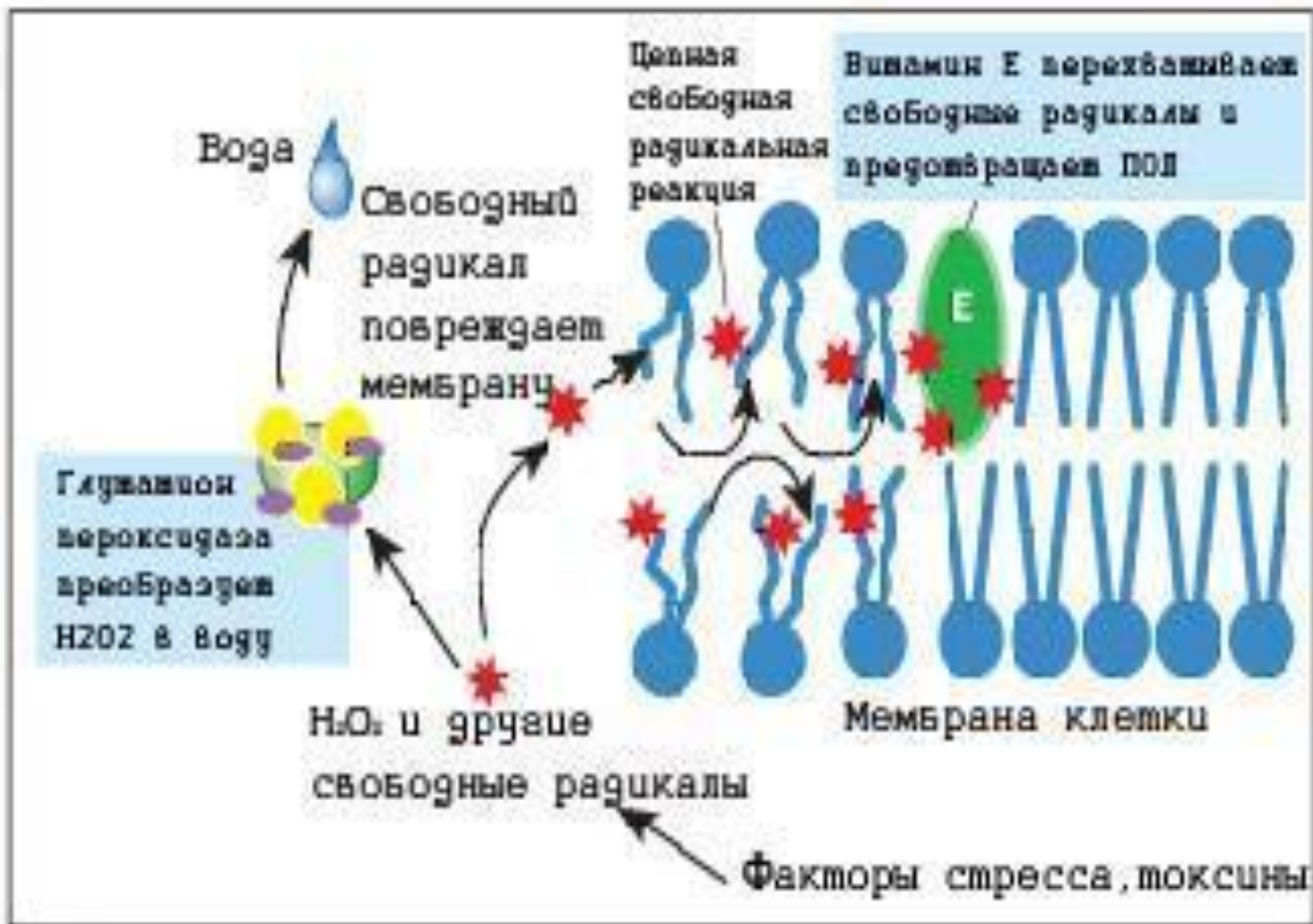
Витамины, обладающие антиоксидантным действием

- ▶ 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_2 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 НАДФН2,).
- ▶ В микросомальном окислении участвует мультиферментная мембраносвязанная система, включающая НАДФН2, особые ФП и цхP450.

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.*