

# Методы изучения реакций с участием свободных радикалов:

1. Электронный парамагнитный резонанс
2. Хемилюминесценция
3. Биохимические

# Методы изучения реакций с участием свободных радикалов

## Биохимические

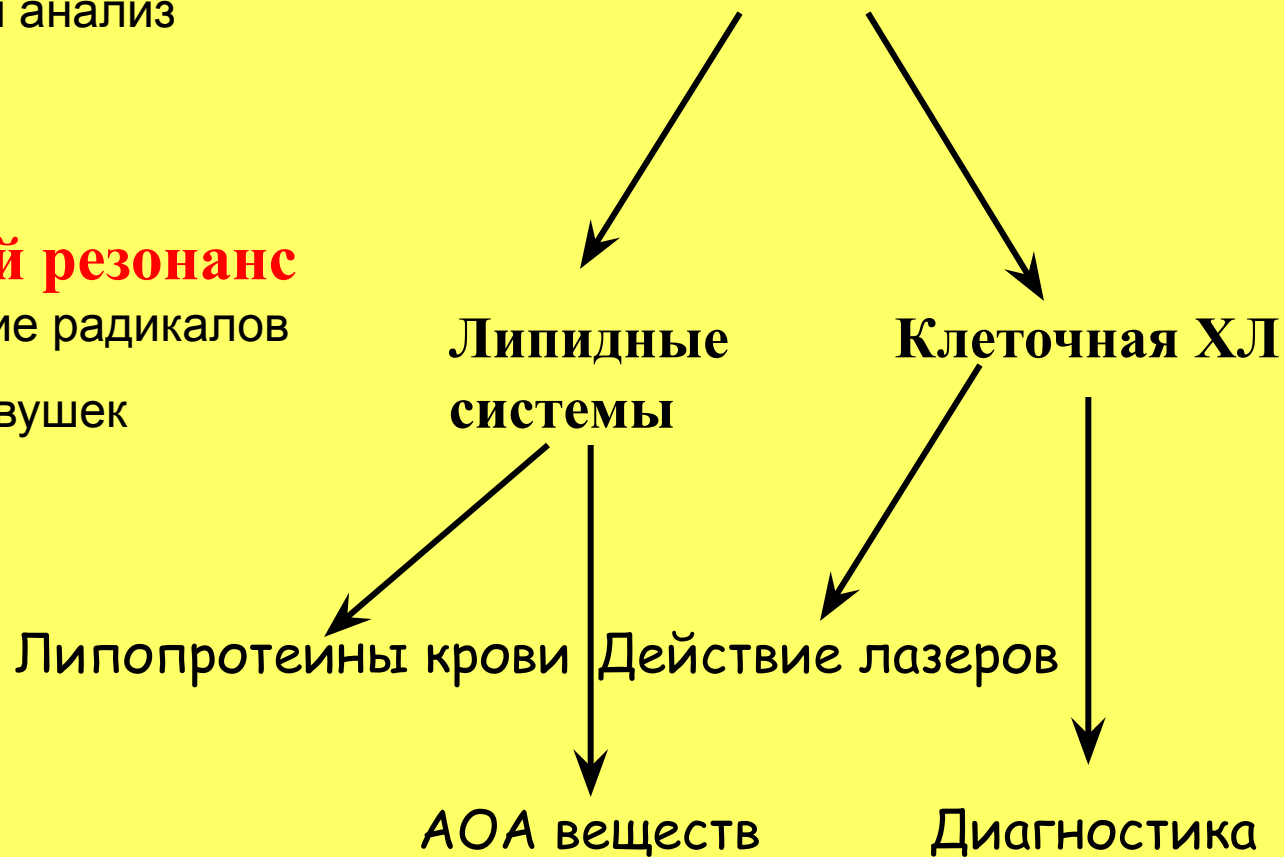
Маркеры,  
Диеновая конъюгация,  
Ингибиторный анализ

## Электронный парамагнитный резонанс

Прямое обнаружение радикалов  
Метод спиновых ловушек

## Хемилюминесценция

Собственная  
Активированная

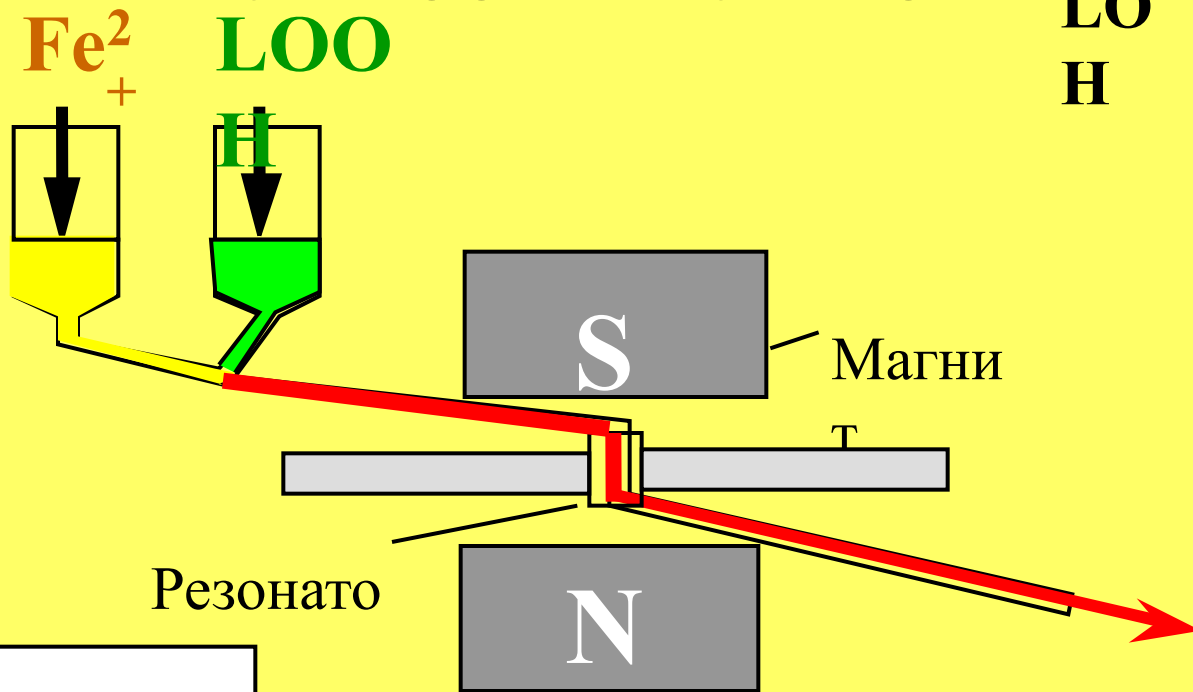
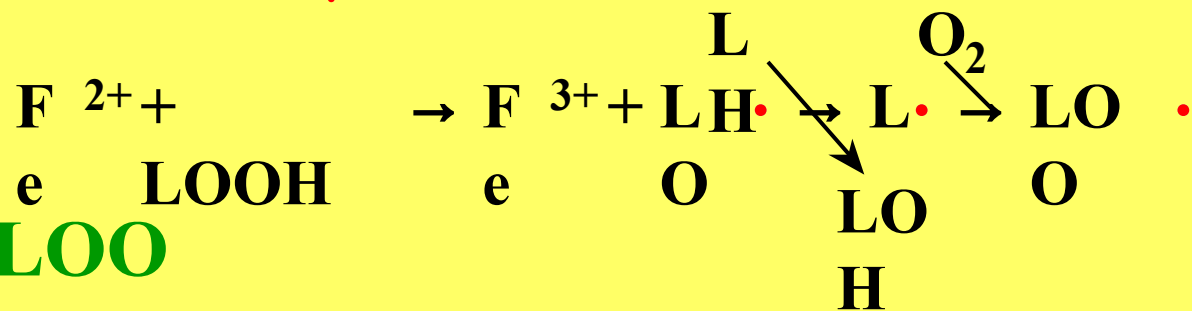


# Методы изучения свободных радикалов:

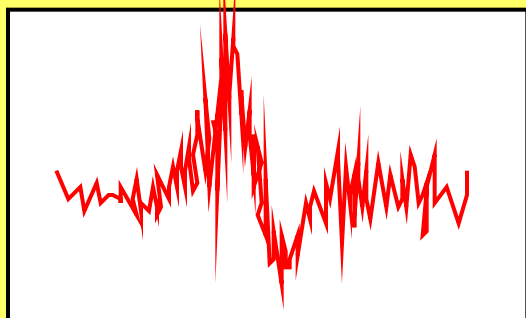
## Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)

- Прямое измерение сигнала радикалов
  - Сигналы стабильных радикалов
  - Метод быстрого смешивания
  - Стабилизация радикалов при низких температурах
- Метод спиновых ловушек

# Прямое обнаружение радикалов липидов методом ЭПР в проточной кювете



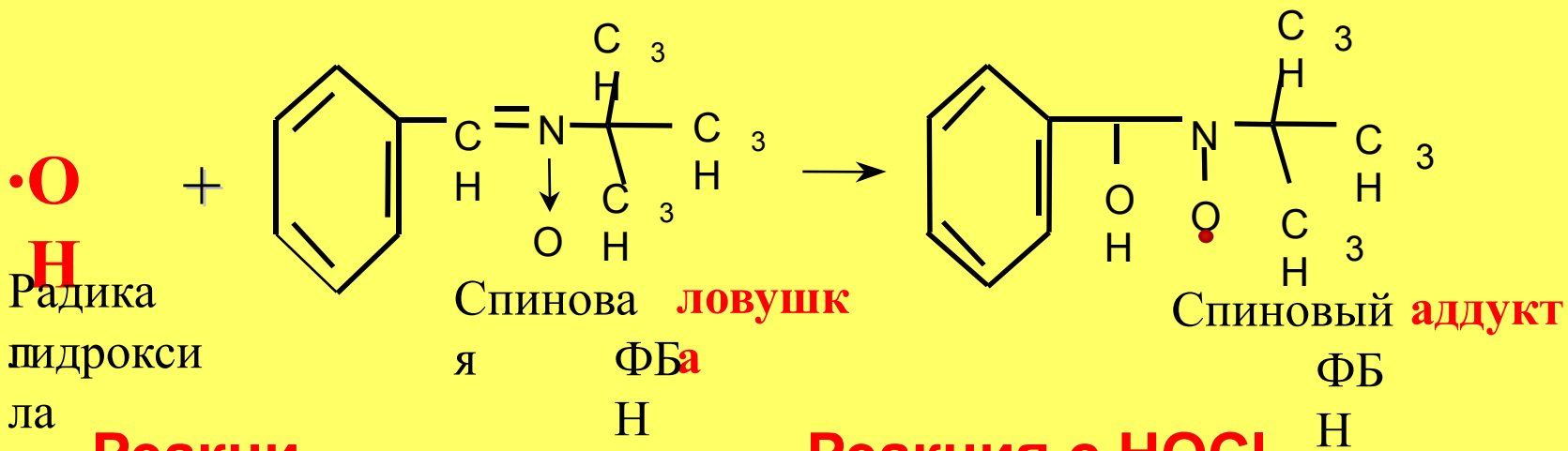
Резонанто



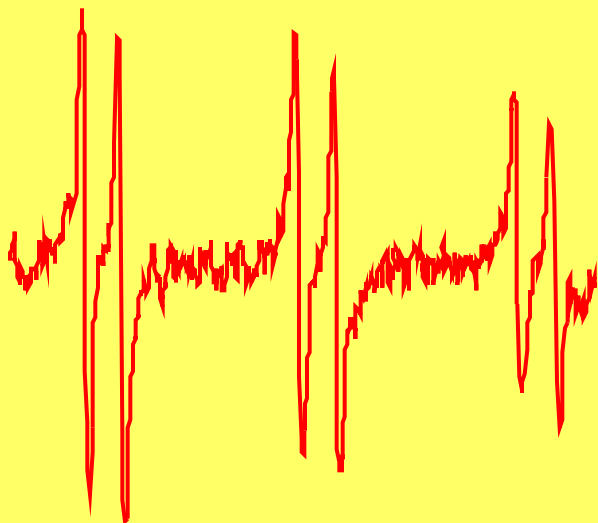
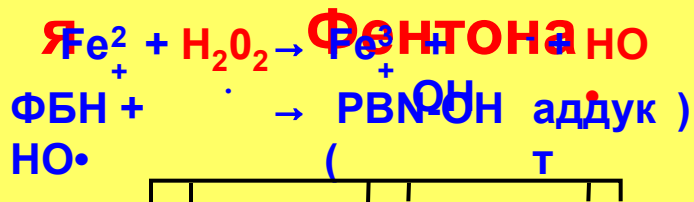
Сигнал  
ЭПР

Осипов А. Н., Моравский А. П.,  
Шувалов В. Ф., Азизова О. А.,  
Владимиров Ю. А. 1980,  
Биофизика 25(2): 234-238.

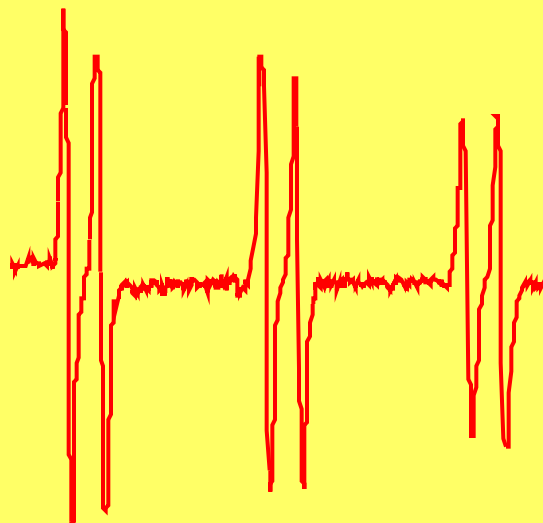
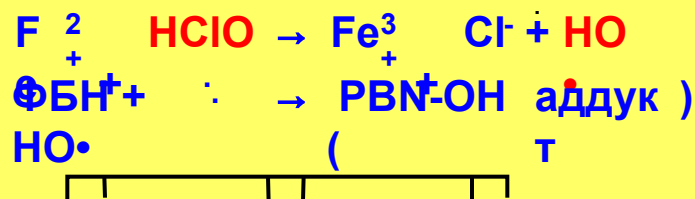
# Две реакции образования радикалов гидроксила



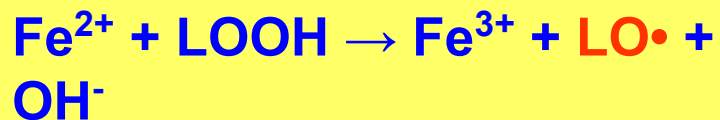
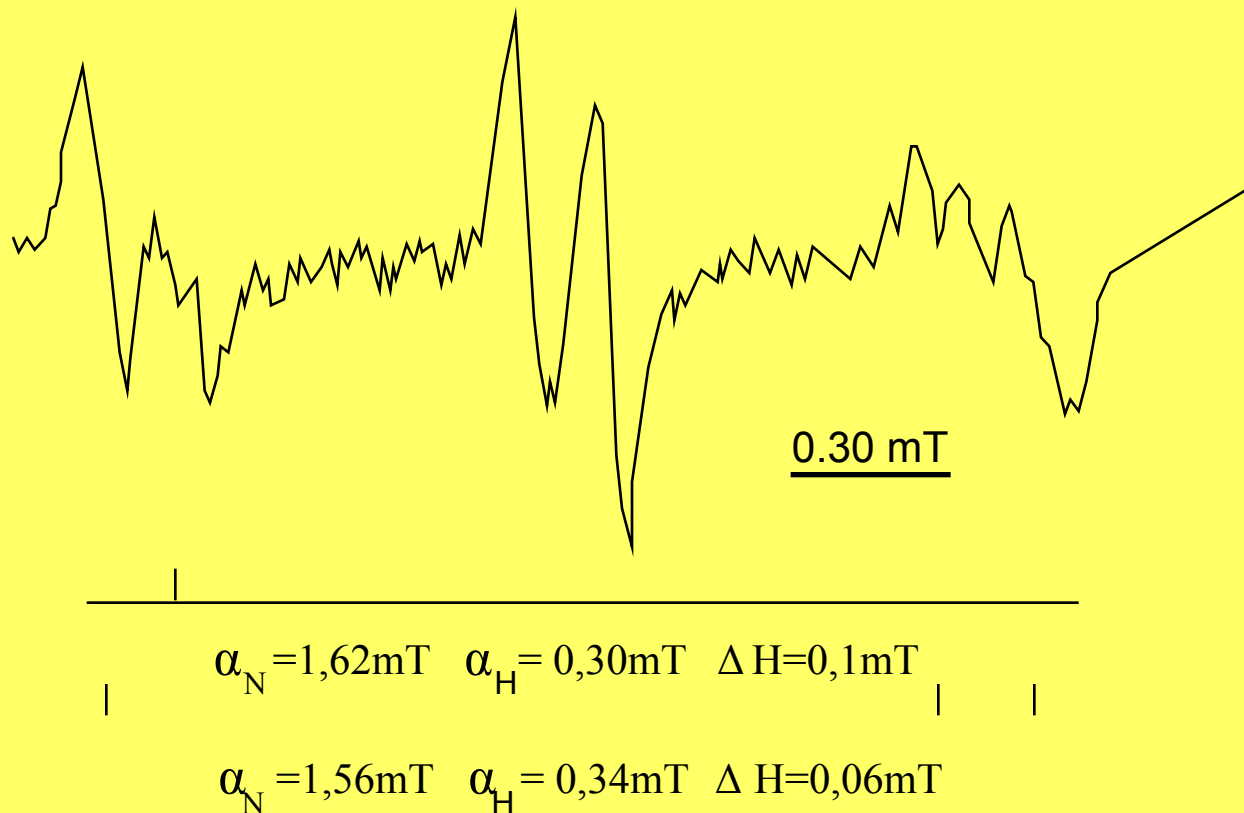
## Реакци



## Реакция с НОСІ



Сигнал ЭПР спиновых аддуктов ФБН и радикалов олеиновой кислоты, образующихся в реакции ионов  $\text{Fe}^{2+}$  с гидроперекисью линоленовой кислоты



# Биохимические методы изучения свободных радикалов

- Биомаркеры
- Диеновая конъюгация
- Ингибиторный анализ

**Биохимические методы  
изучения свободных радикалов**

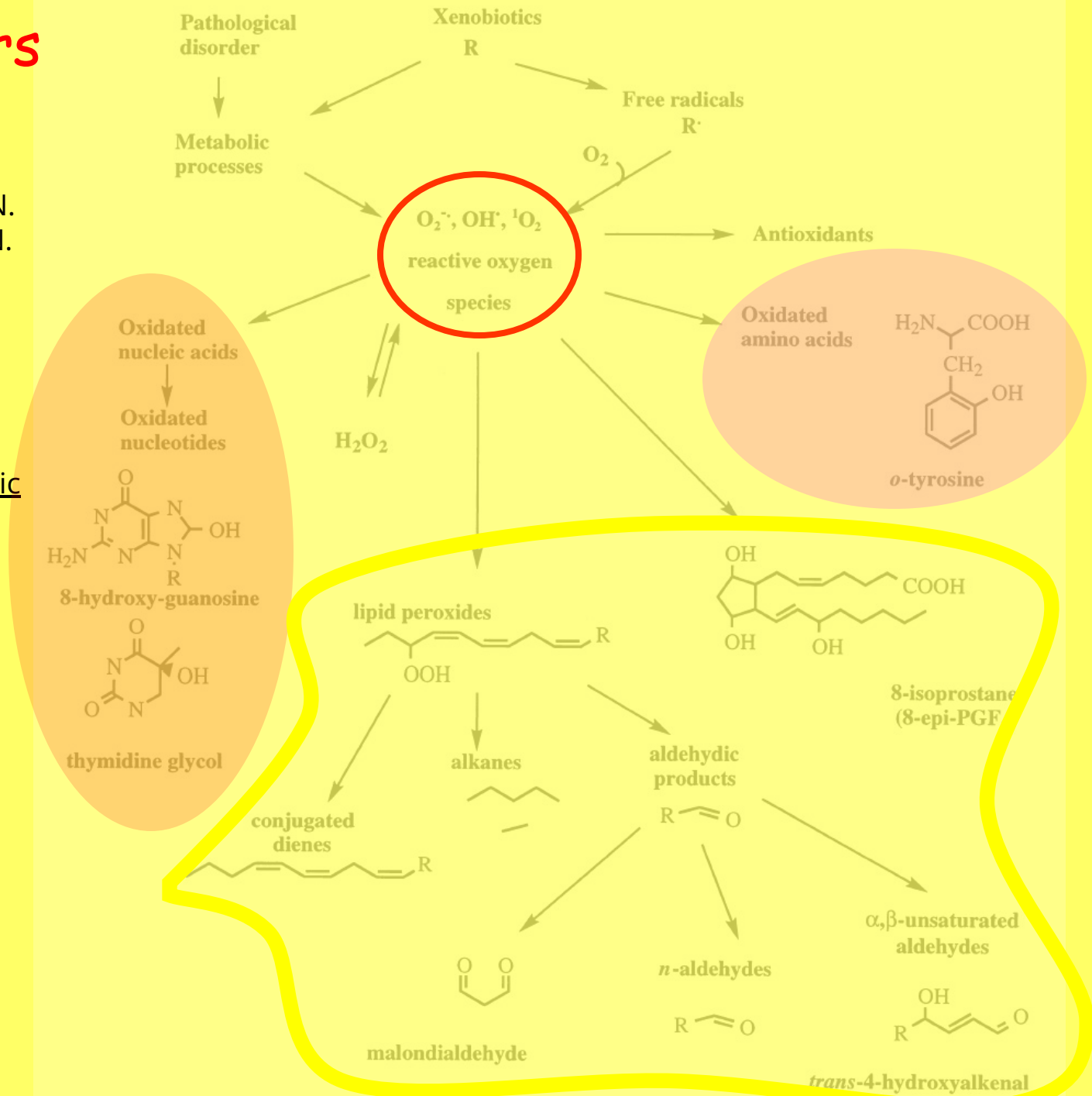
**Биомаркеры**



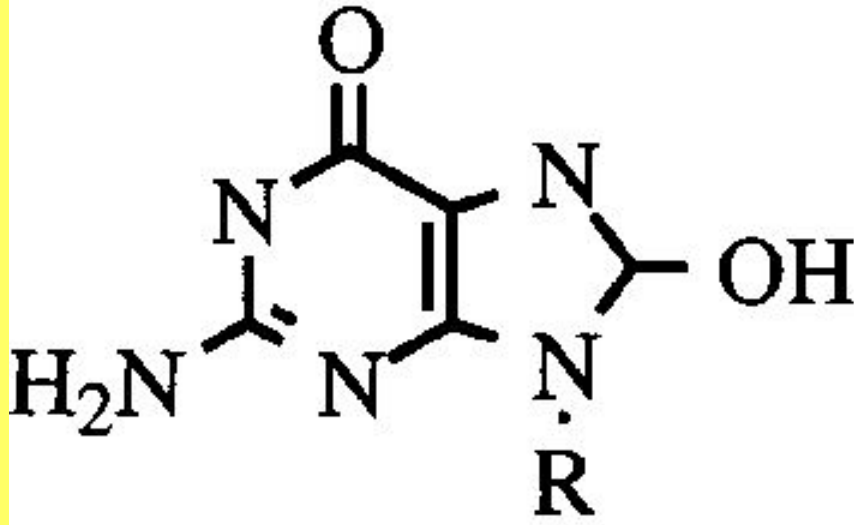
# Biomarkers

de Zwart, L. L.,  
Meerman, J. H.,  
Commandeur, J. N.  
and Vermeulen, N.  
P. (1999).

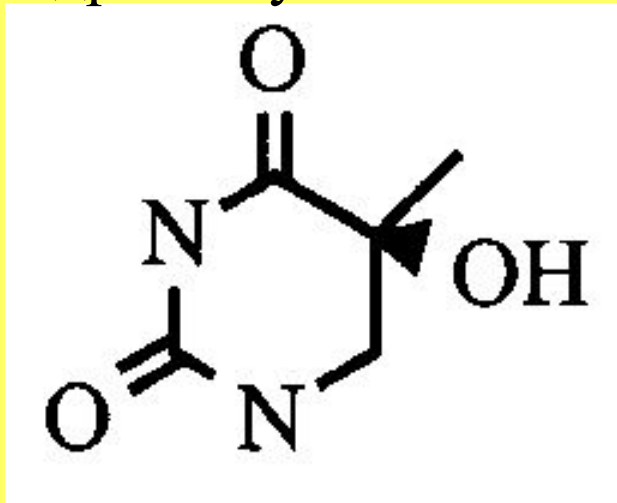
*Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans.* Free Radic Biol Med **26**(1-2): 202-26.



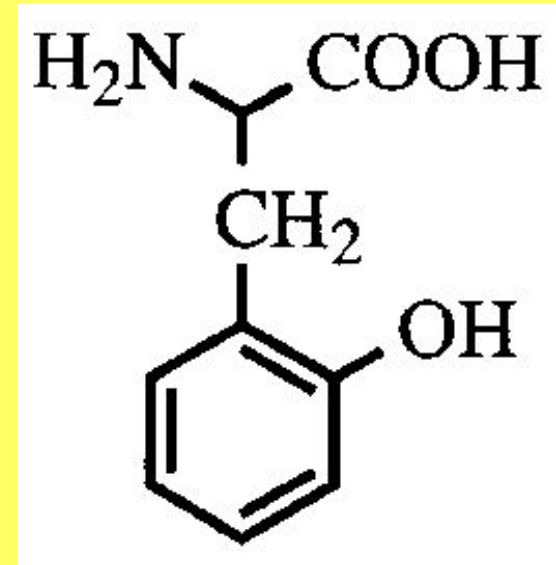
# Маркеры оксидативного повреждения нуклеиновых кислот (слева) и белков (справа)



8-гидроксигуанозин



ТИМИДИНГЛИКОЛЬ



o-тирозин

# Образование маркеров при окислении ДНК

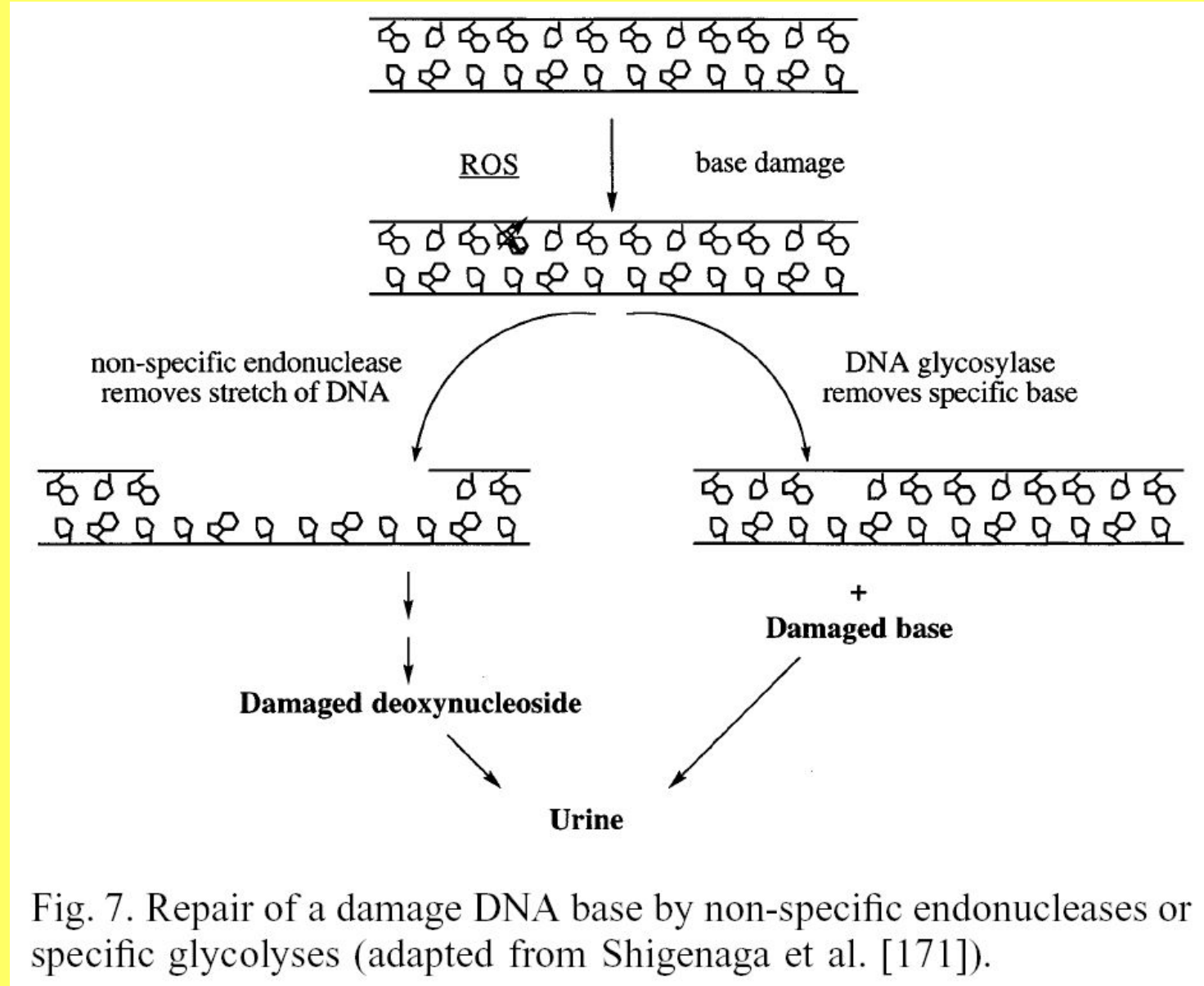


Fig. 7. Repair of a damage DNA base by non-specific endonucleases or specific glycolyses (adapted from Shigenaga et al. [171]).

# Биомаркеры на окисление арахидоновой кислоты

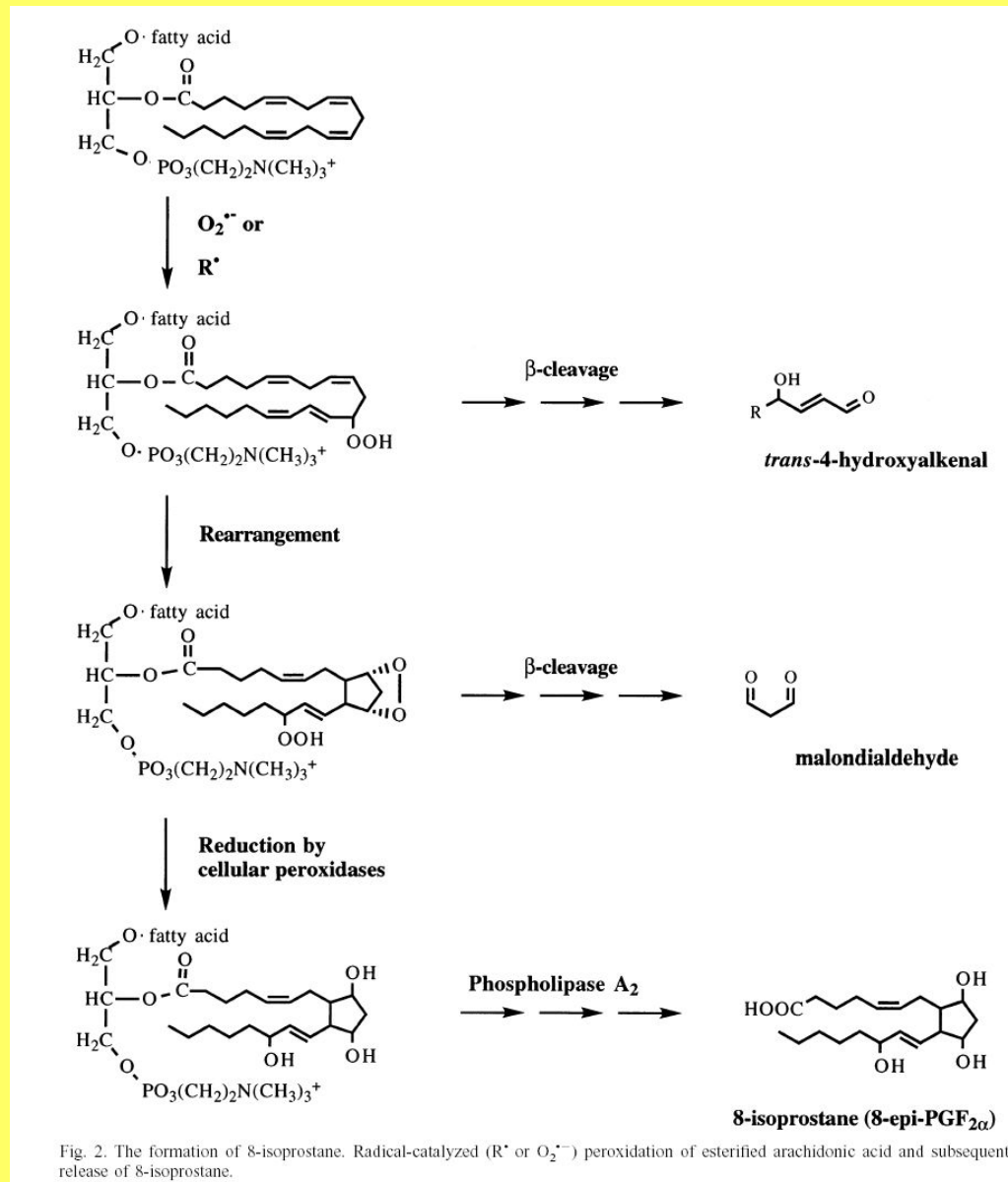


Fig. 2. The formation of 8-isoprostane. Radical-catalyzed ( $R^{\cdot}$  or  $O_2^{\cdot-}$ ) peroxidation of esterified arachidonic acid and subsequent release of 8-isoprostane.

## Структура некоторых изопростанов

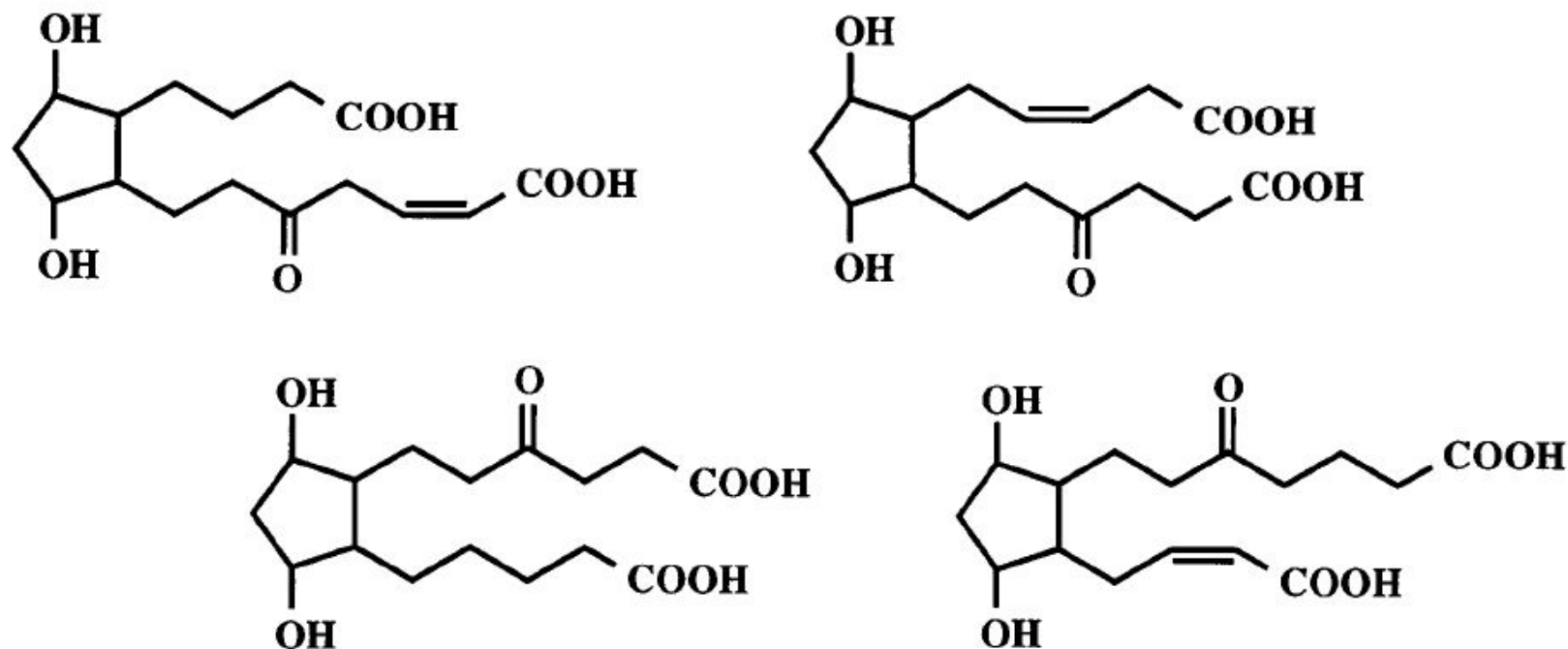
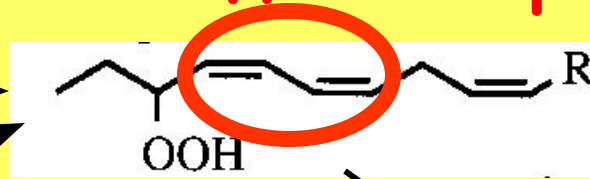


Fig. 4. Structures of metabolites of F<sub>2</sub>-isoprostane regioisomers [79].

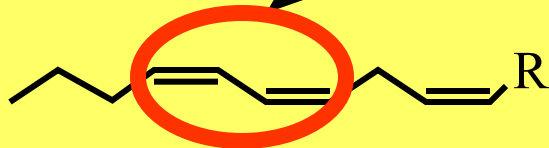
# Маркеры липидной пероксидации

Цепное окисление

Липоксигеназа



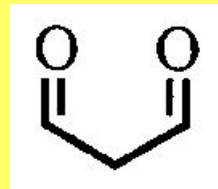
Липогидропероксид



Алканы

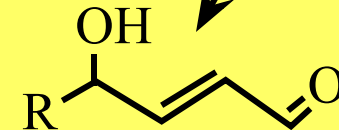


Альдегиды



Малоновый диальдегид

$\alpha$ -,  $\beta$ -ненасыщенные альдегиды



*транс*-4-гидроксиалкеналь



Алифатические альдегиды

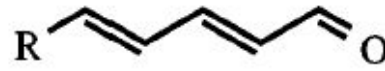
# Биомаркеры - карбонилы



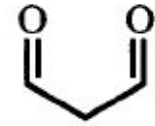
*n*-alkanals



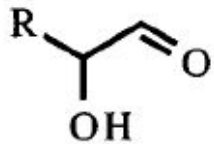
2-alkenals



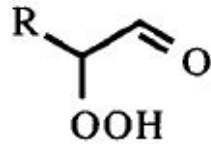
2,4-alkadienals



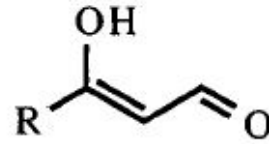
MDA



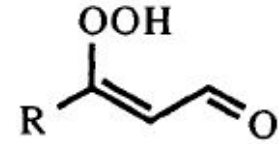
$\alpha$ -hydroxyalkanals



hydroperoxyalkanals



4-hydroxyalkenals



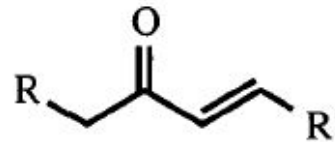
4-hydroperoxyalkenals



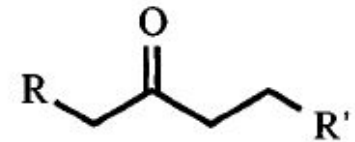
alkanes



alkenes



unsaturated ketones



saturated ketones

Fig. 6. Stable carbonyls formed following peroxidation of  $\omega$ -3 and  $\omega$ -6 fatty acids.

# Кинетика образования изопростановых биомаркеров у крыс при отравлении четыреххлористым углеродом

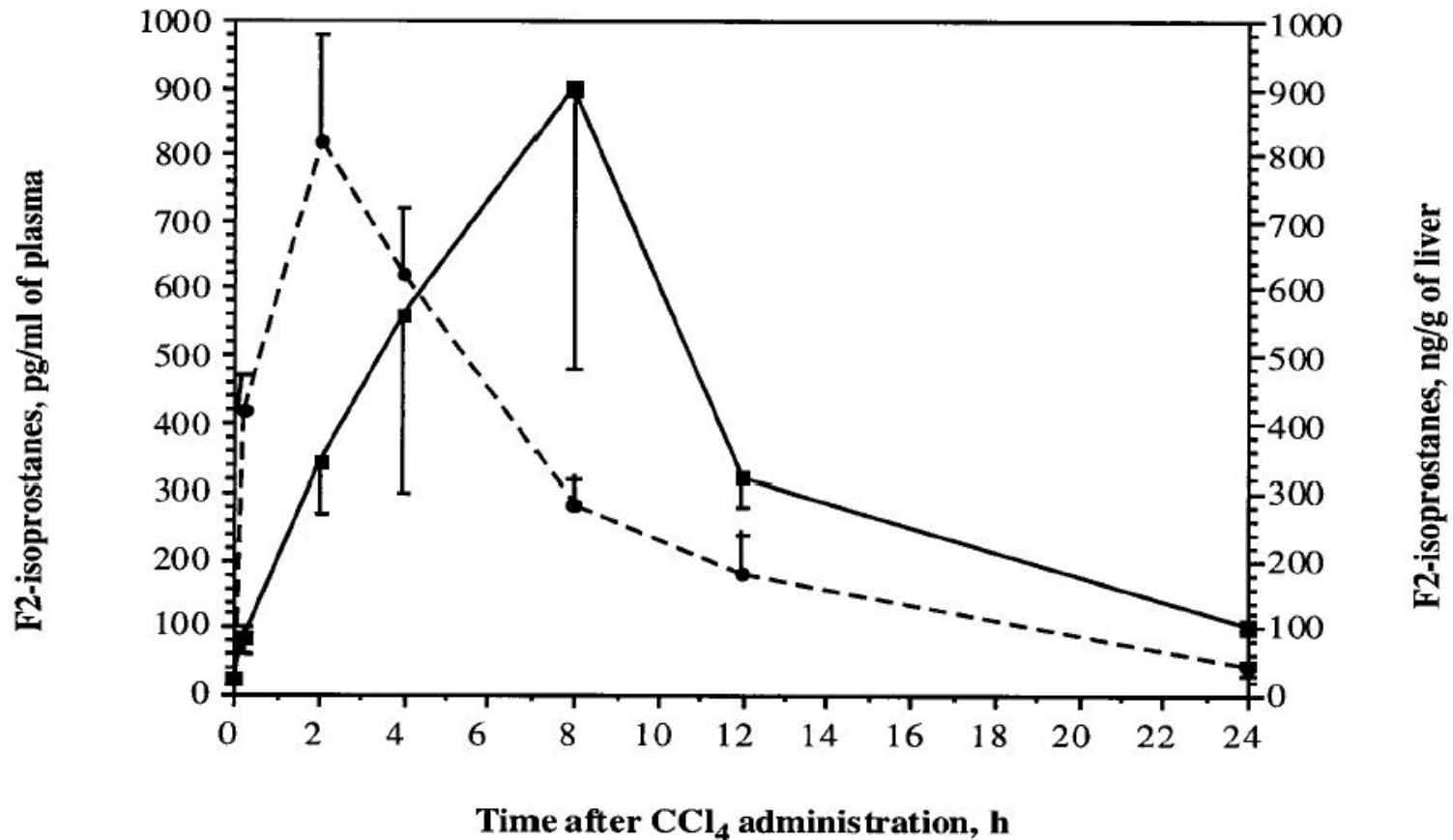


Fig. 3. Time course of appearance of lipid-associated F<sub>2</sub>-isoprostanes in liver (●) and free F<sub>2</sub>-isoprostanes in the circulation (■) of rats after intragastric administration of CCl<sub>4</sub> (1 ml/kg). Each time point represents the mean ± SD of levels of measured in at least four animals (replot of data from ref. 77).



# Биомаркеры у курильщиков

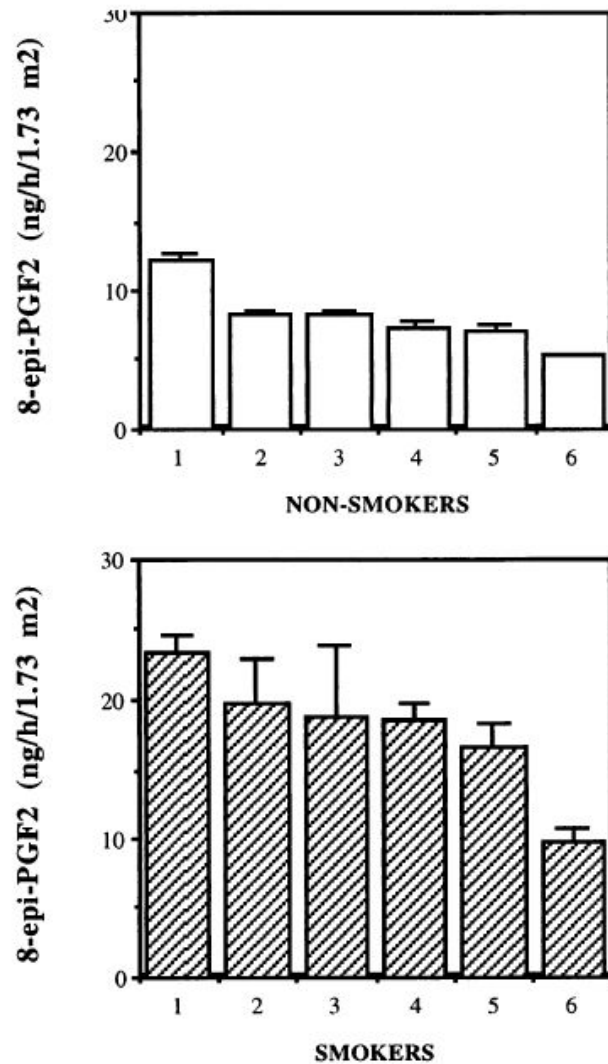


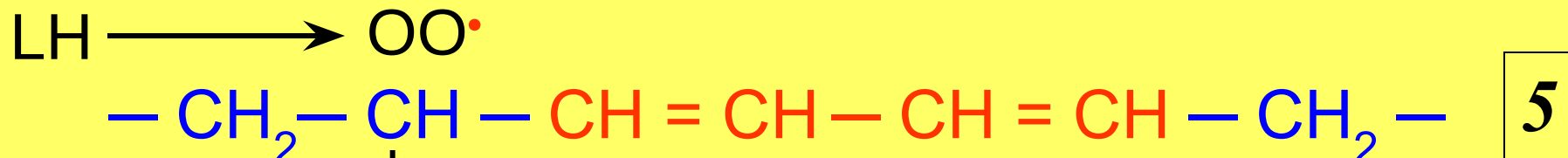
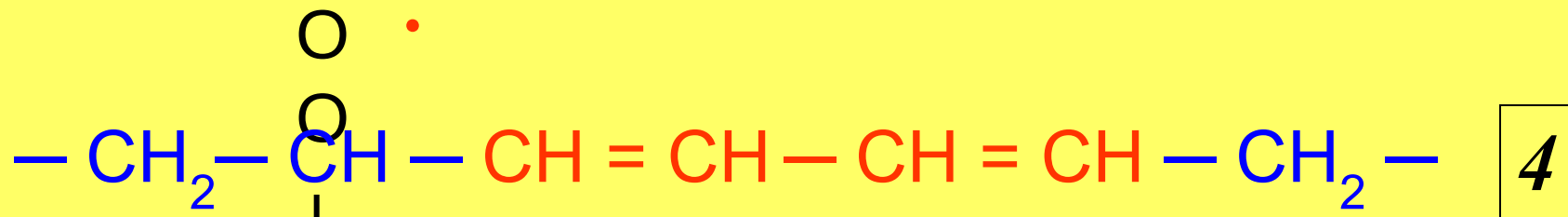
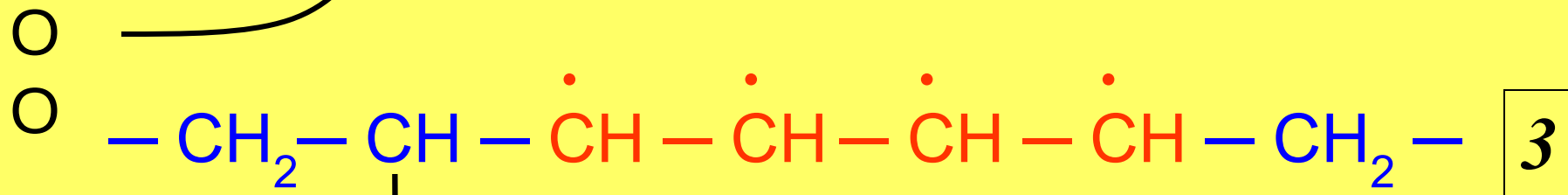
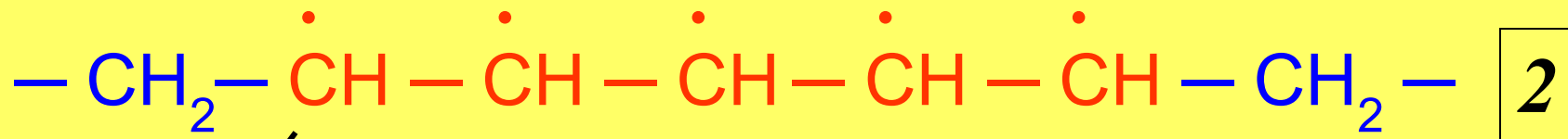
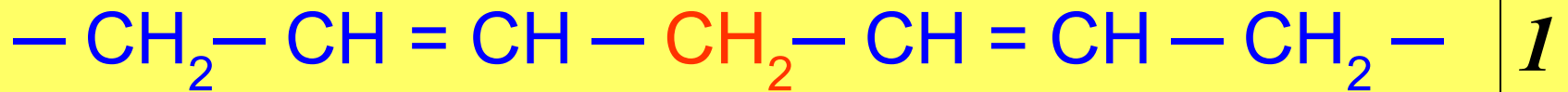
Fig. 5. Urinary excretion of 8-epi-PGF<sub>2α</sub> in non-smoking and smoking healthy volunteers. Each bar represents the mean individual value ( $\pm$ SD) based on 6 h urine collections on different days ( $n = 3$ ) (data replotted from Bachi et al. [92]).

**Биохимические методы  
изучения свободных радикалов**

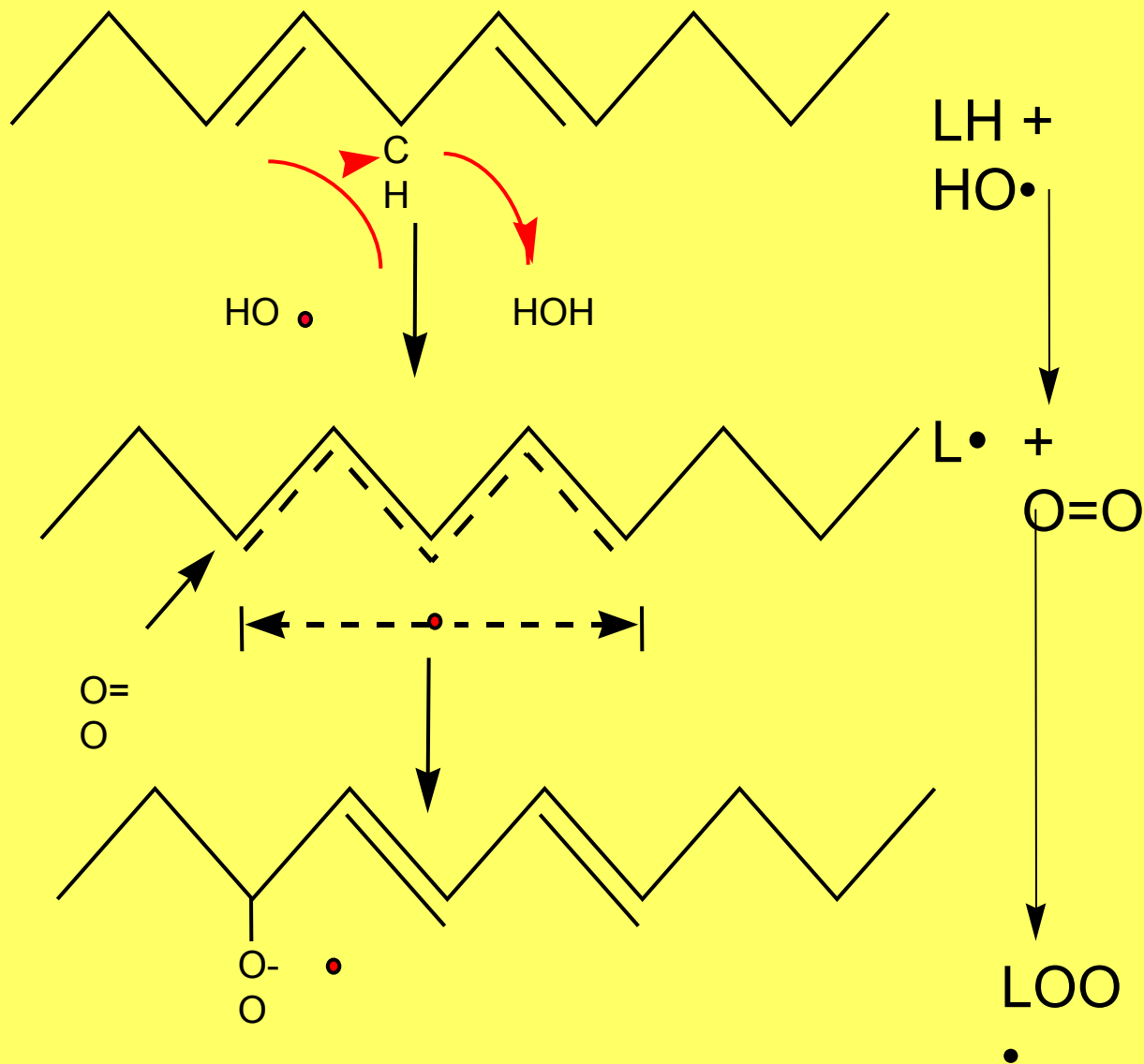
**Диеновая конъюгация**



# Другая форма изображения диеновой конъюгации

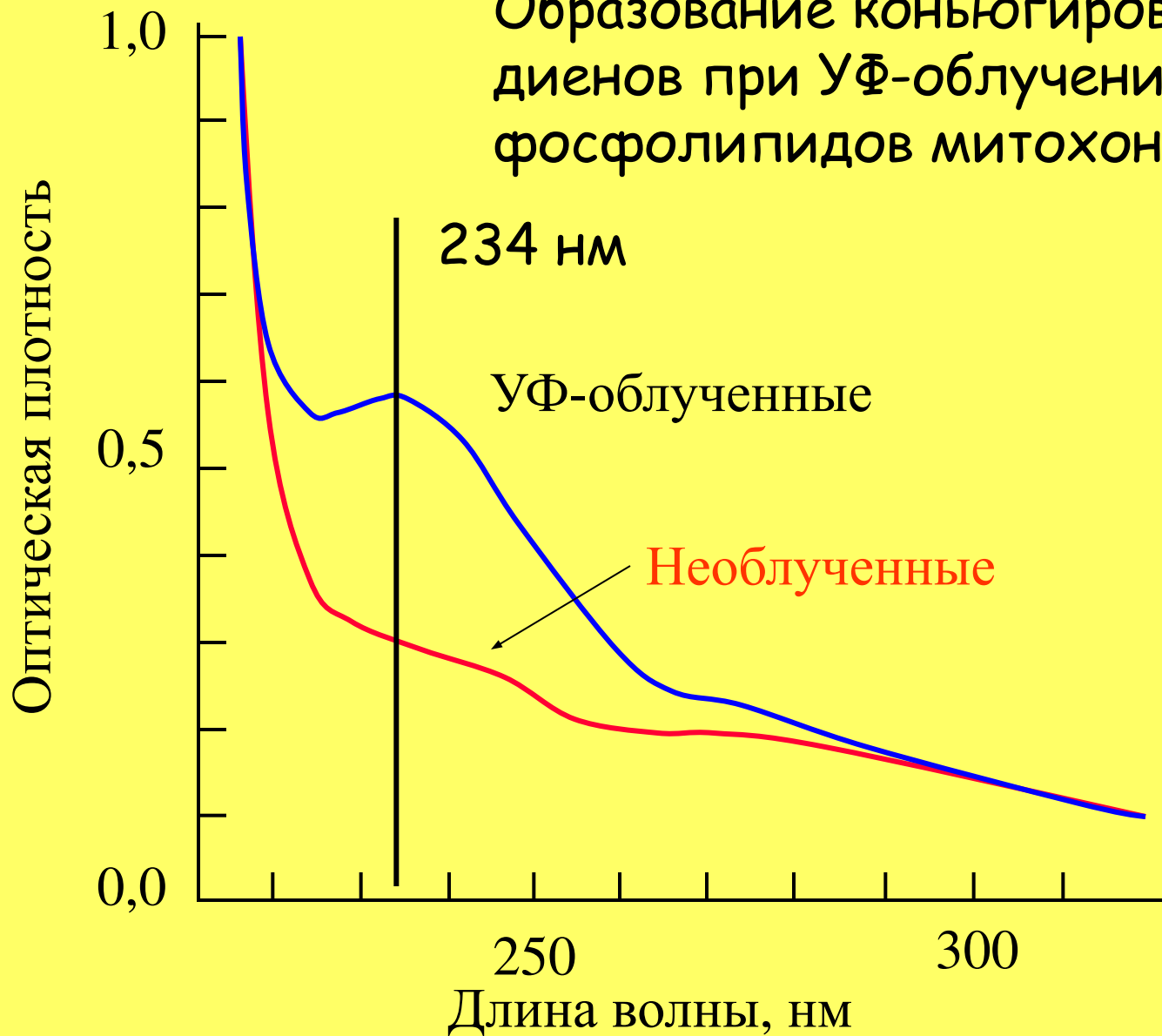


# Третий способ изображения процесса диеновой конъюгации



# Спектры диеновых конъюгатов

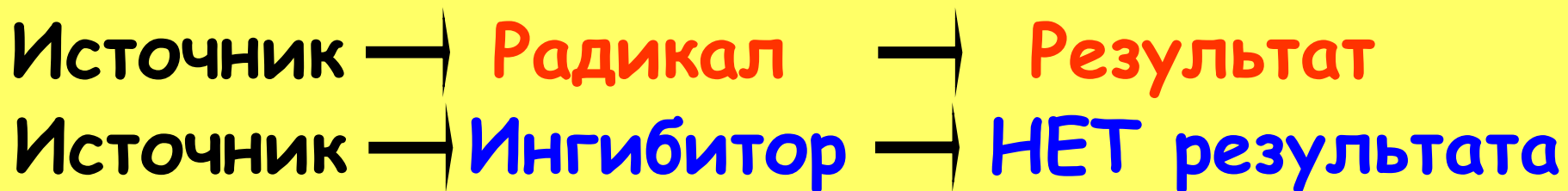
Образование конъюгированных диенов при УФ-облучении фосфолипидов митохондрий



**Биохимические методы  
изучения свободных радикалов**

**Ингибиторный анализ**

# Ингибиторный анализ



## Примеры

- Супероксид-дисмутаза (**СОД**) → Ингибирование реакций с участием **супероксидного радикала**
- Перехватчики липидных радикалов (**токоферол**, каротиноиды, флавоноиды и другие «липидные антиоксиданты») → Ингибирование реакций с участием **липидных радикалов**



# Вопросы к зачету (Без ЭТР)

1. Перечислите основные методы изучения реакций с участием свободных радикалов (можно в виде схемы).
2. Биомаркеры для изучения оксидативного повреждения белков и нуклеиновых кислот.
3. Биомаркеры для обнаружения липидной пероксидации в организме пациентов.
4. Что Вы знаете об анализе алканов в выдыхаемом воздухе.
5. Метод диеновой конъюгации. Теоретические основы и способы определения конъюгированных диенов.
6. Применение ингибиторов при изучении роли радикалов в различных процессах.