

Методы изучения реакций с участием свободных радикалов:

1. Электронный парамагнитный резонанс
2. Хемилюминесценция
3. Биохимические

Методы изучения реакций с участием свободных радикалов

Биохимические

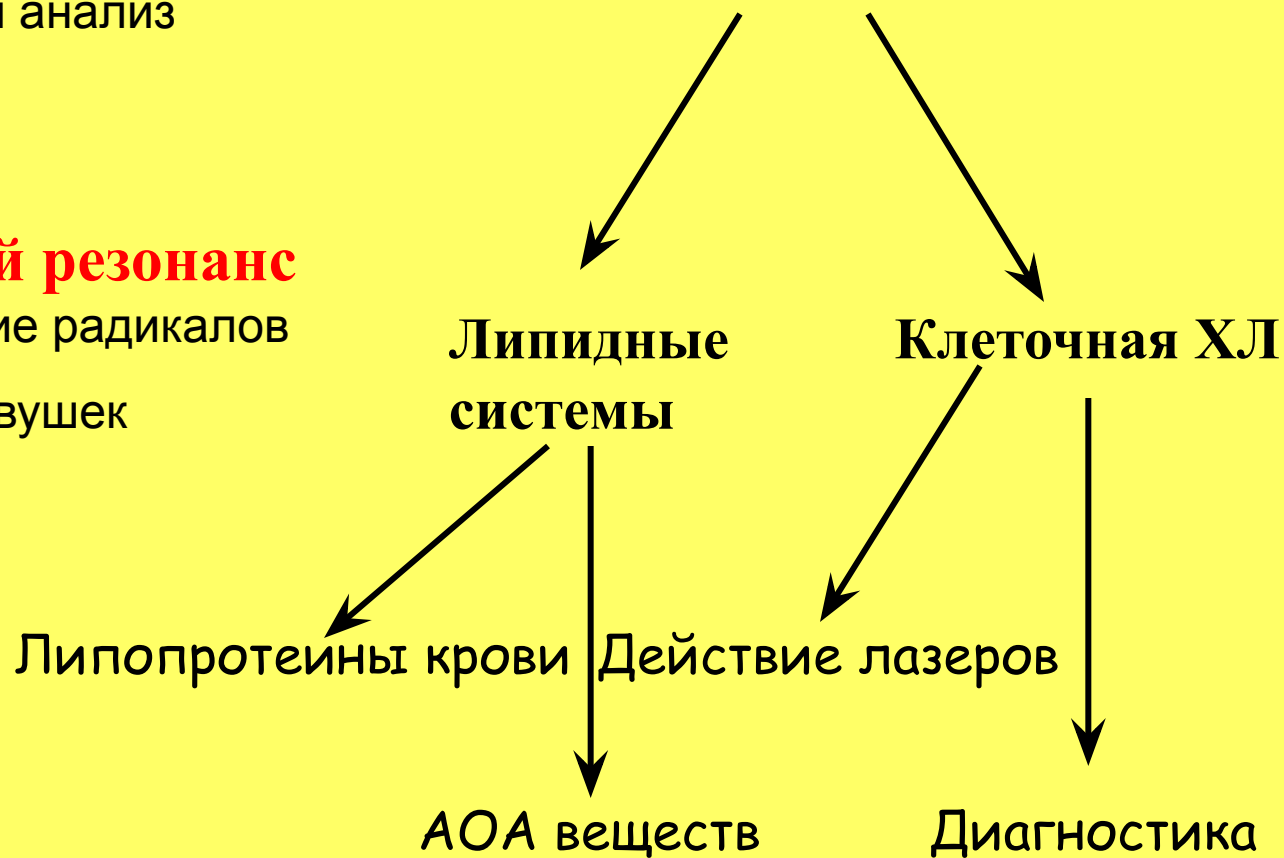
Маркеры,
Диеновая конъюгация,
Ингибиторный анализ

Электронный парамагнитный резонанс

Прямое обнаружение радикалов
Метод спиновых ловушек

Хемилюминесценция

Собственная
Активированная

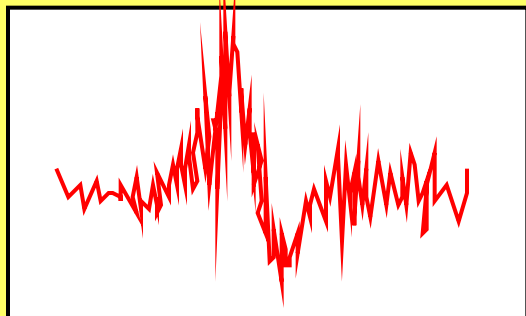
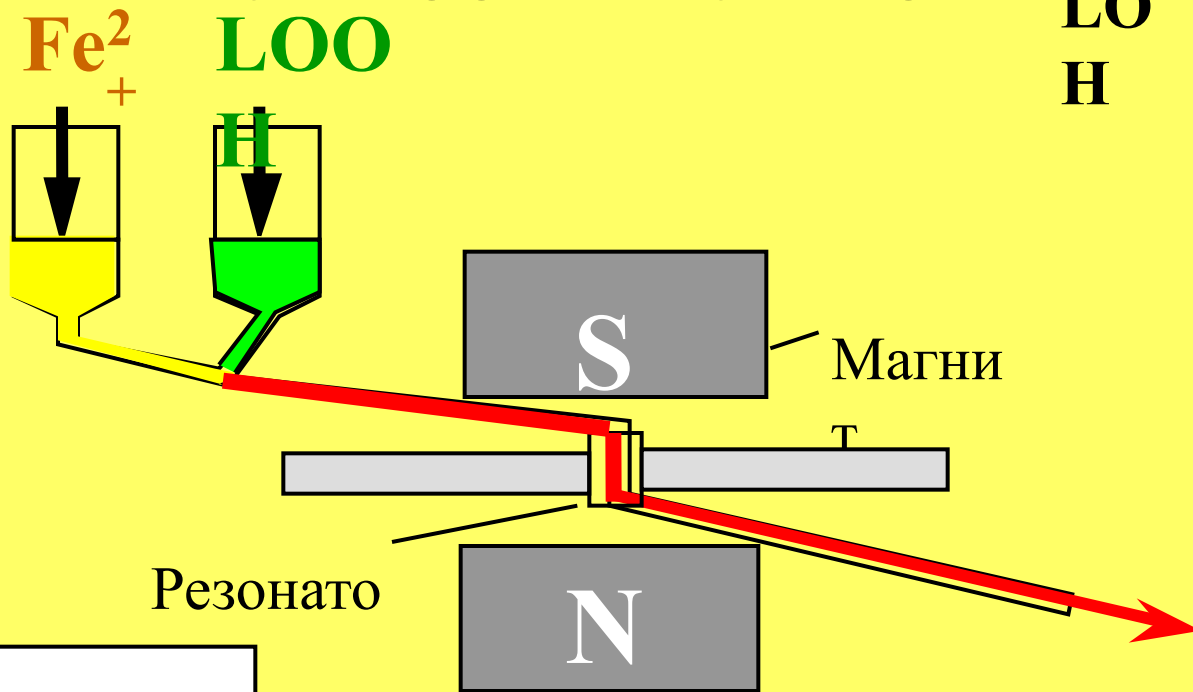
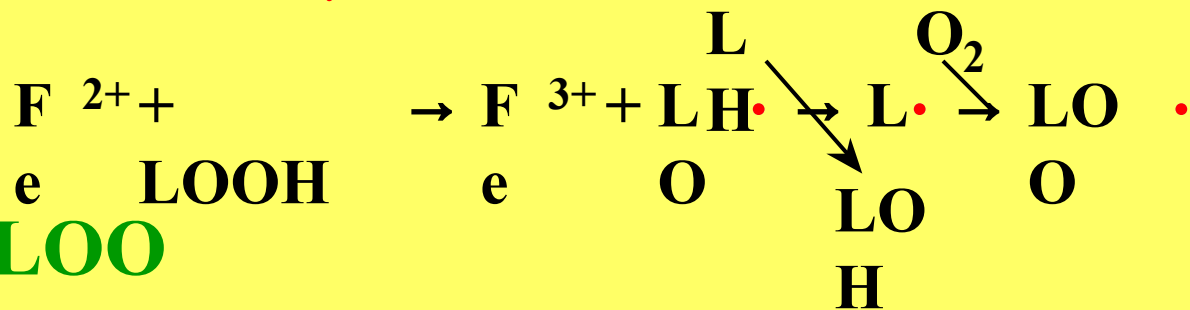


Методы изучения свободных радикалов:

Метод электронного парамагнитного резонанса (ЭПР)

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

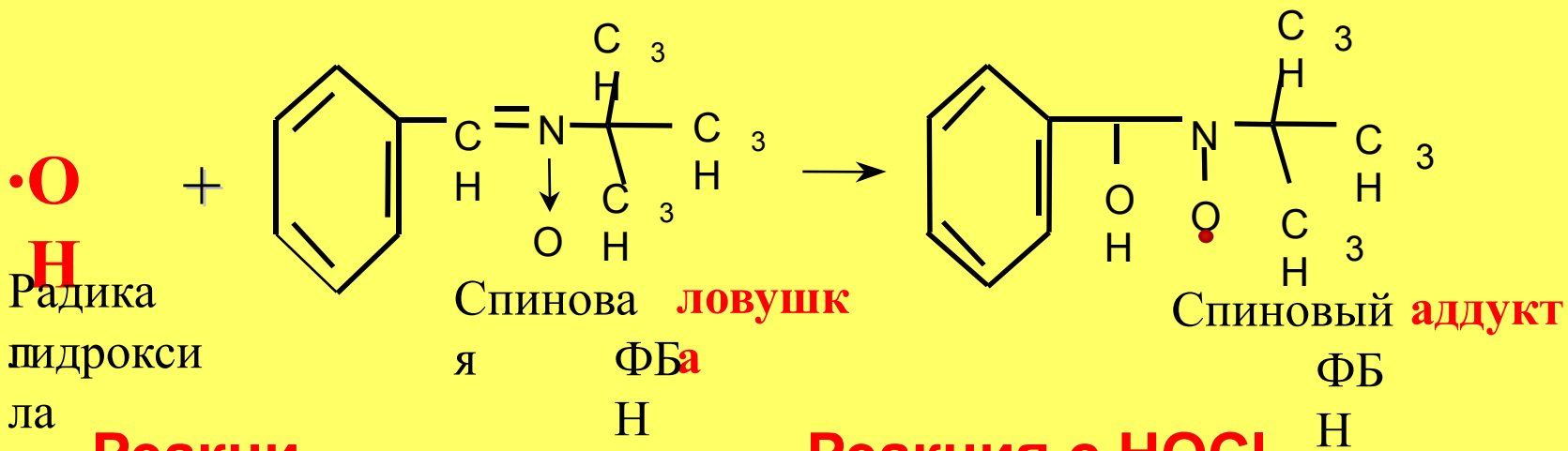
Прямое обнаружение радикалов липидов методом ЭПР в проточной кювете



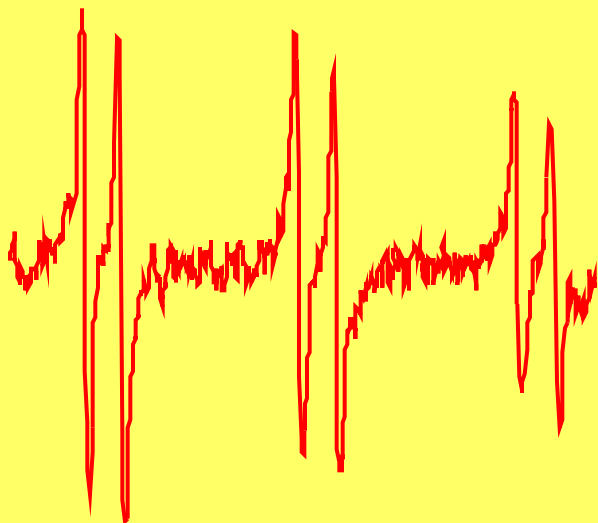
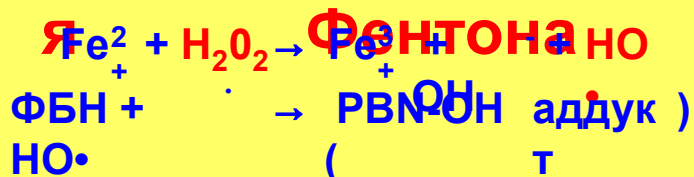
**Сигнал
ЭПР**

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

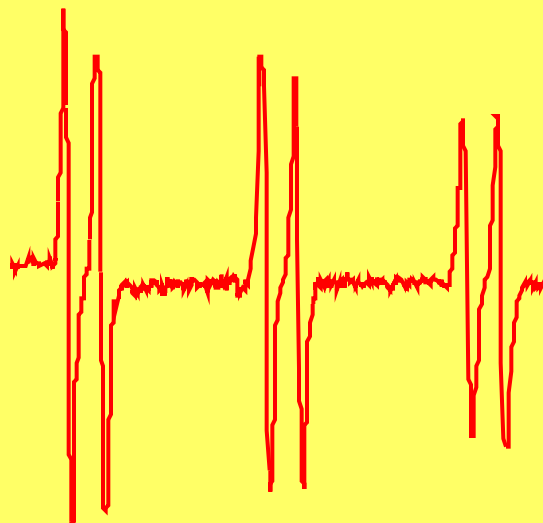
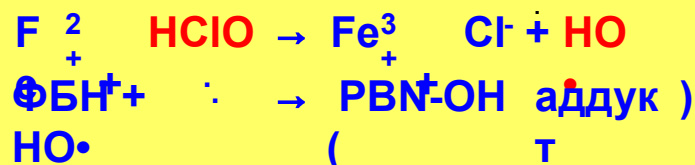
Две реакции образования радикалов гидроксила



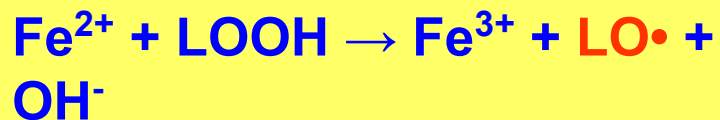
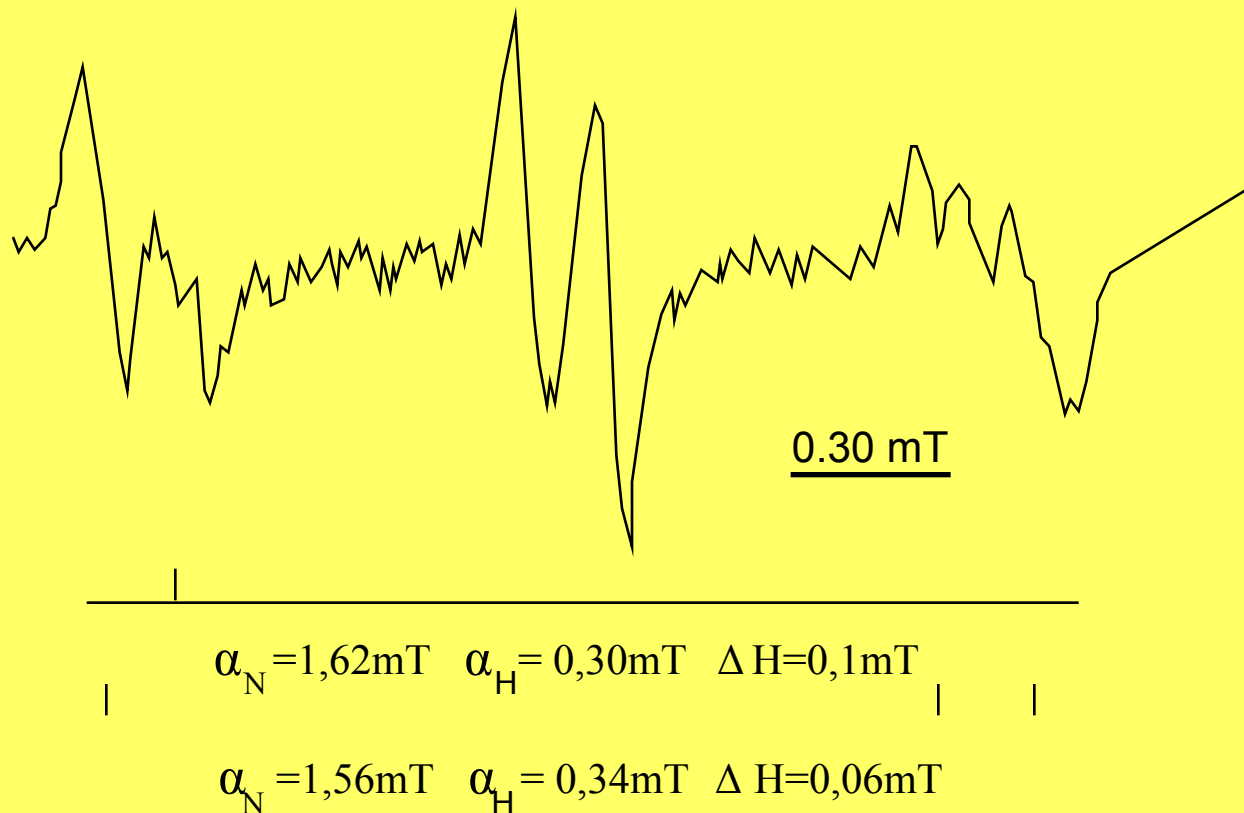
Реакци



Реакция с НОСІ



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



Биохимические методы изучения свободных радикалов

- Биомаркеры
- Диеновая конъюгация
- Ингибиторный анализ

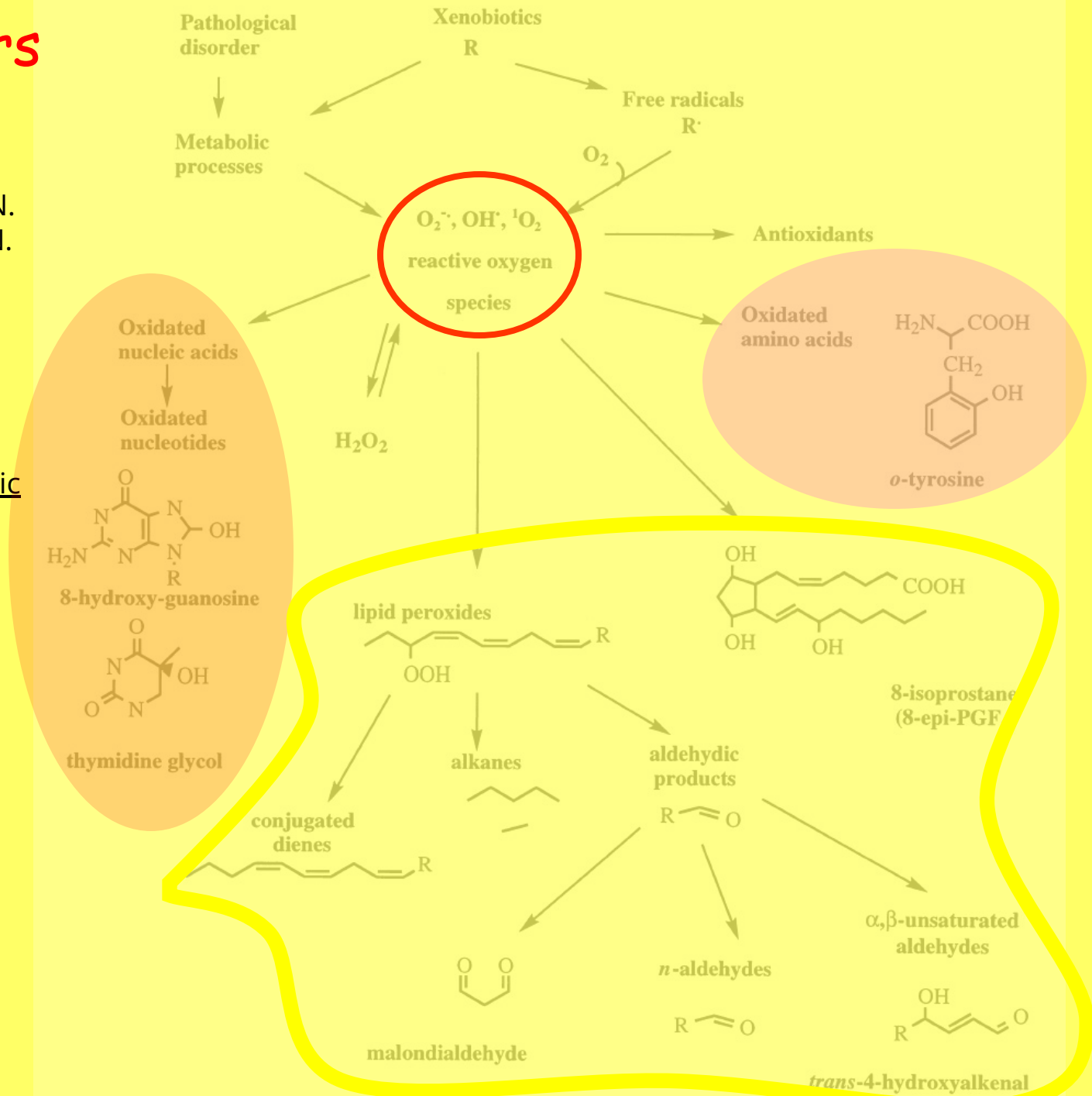
**Биохимические методы
изучения свободных радикалов**

Биомаркеры

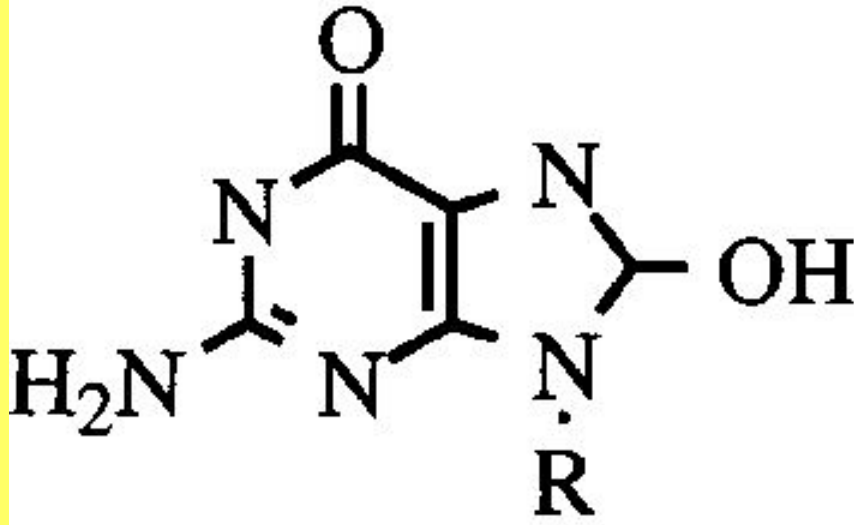
Biomarkers

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

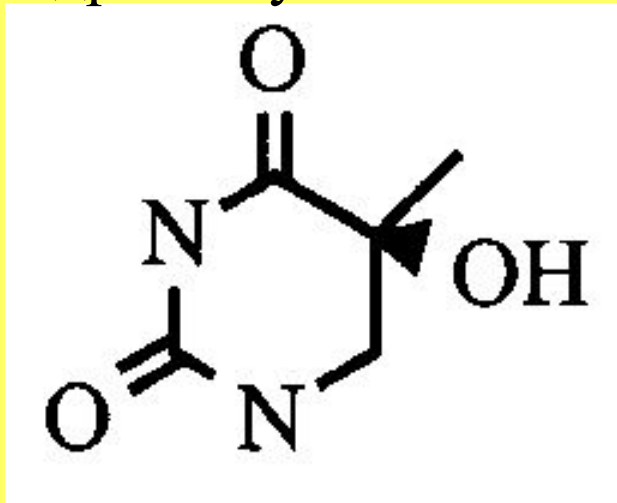
Biomarkers of free radical damage applications in experimental animals and in humans. Free Radic Biol Med **26**(1-2): 202-26.



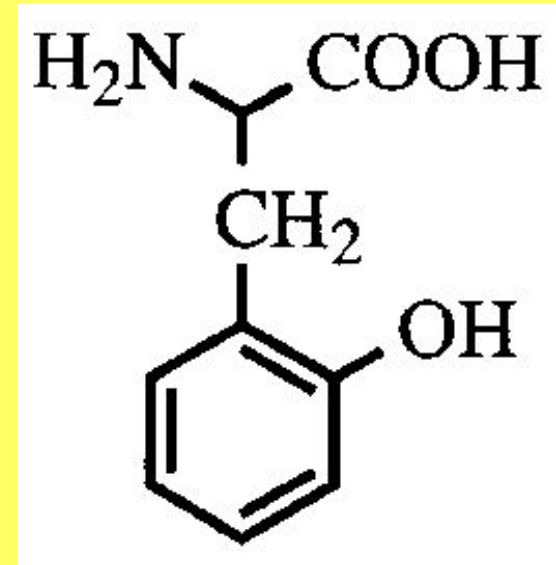
Маркеры оксидативного повреждения нуклеиновых кислот (слева) и белков (справа)



8-гидроксигуанозин



ТИМИДИНГЛИКОЛЬ



o-тирозин

Образование маркеров при окислении ДНК

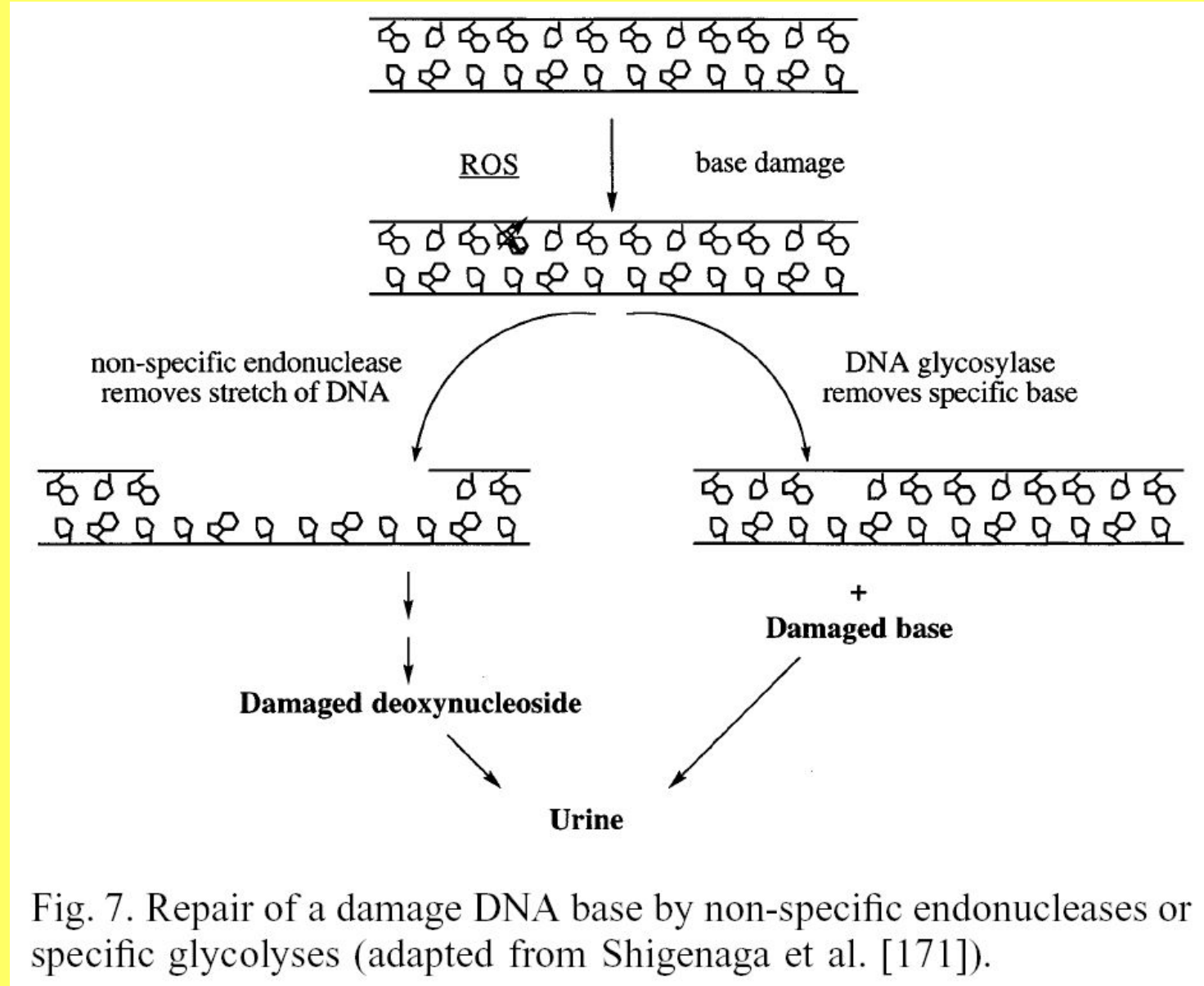
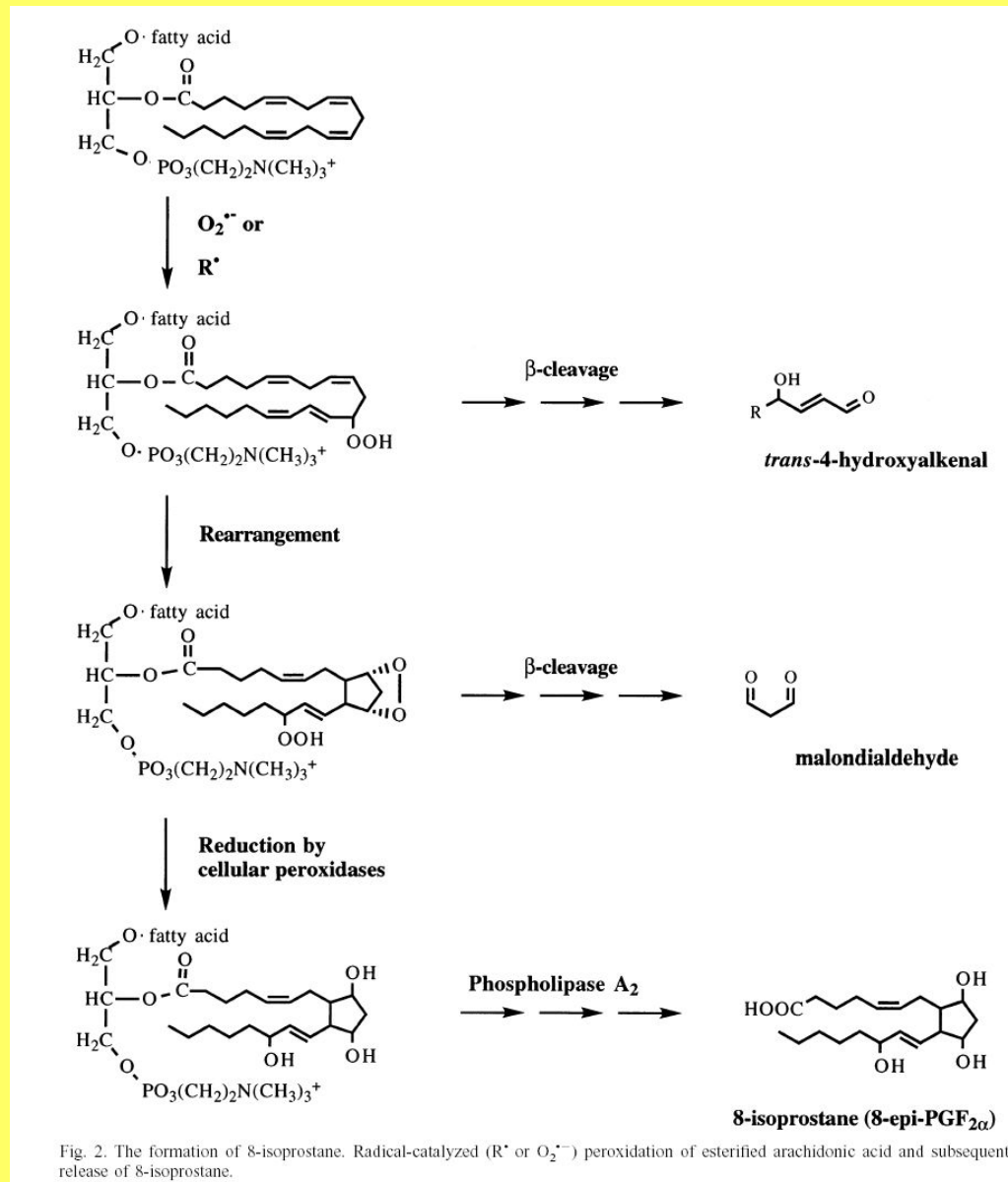


Fig. 7. Repair of a damage DNA base by non-specific endonucleases or specific glycolyses (adapted from Shigenaga et al. [171]).

Биомаркеры на окисление арахидоновой кислоты



Структура некоторых изопростанов

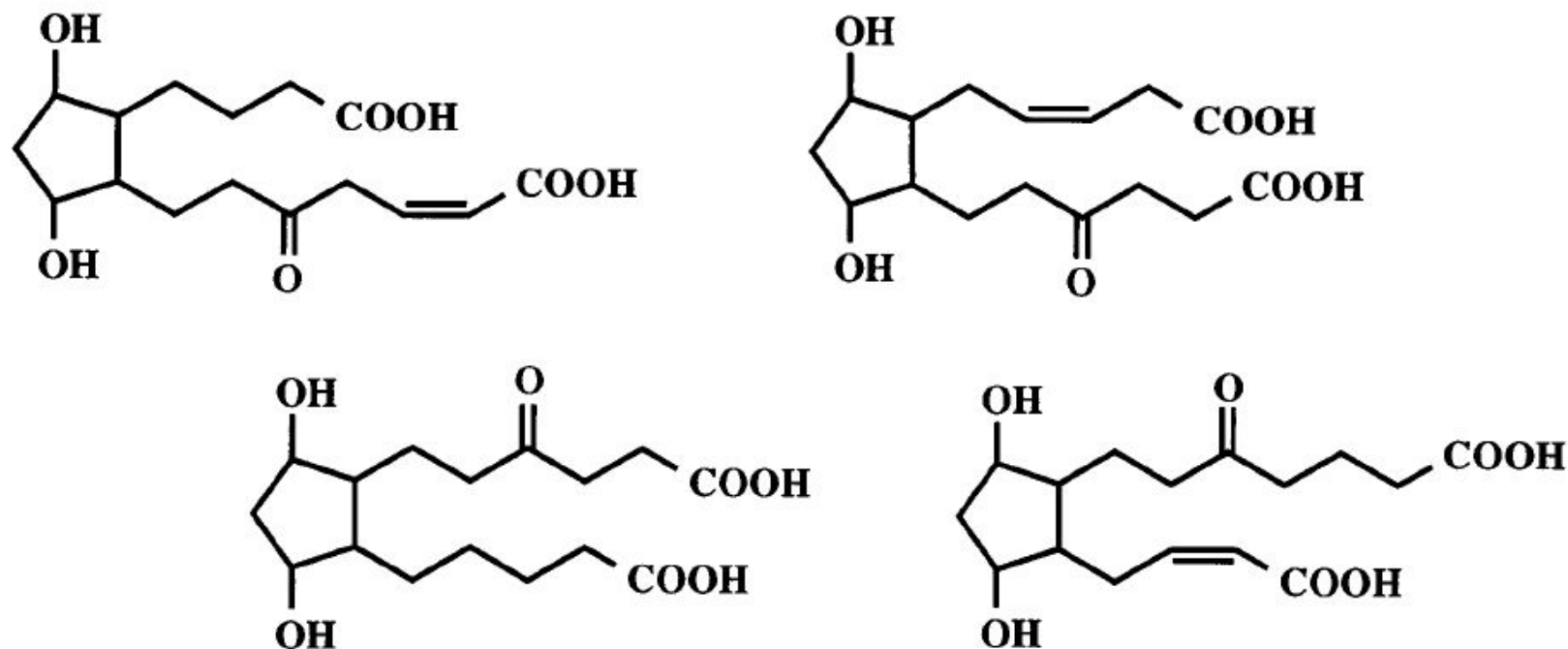
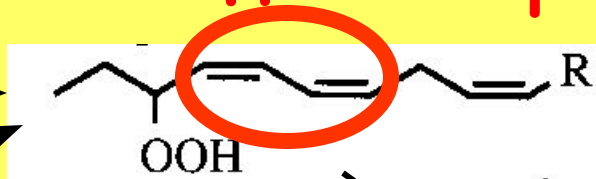


Fig. 4. Structures of metabolites of F₂-isoprostane regioisomers [79].

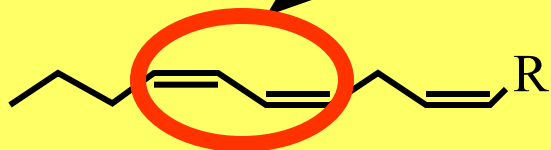
Маркеры липидной пероксидации

Цепное окисление

Липоксигеназа



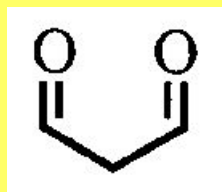
Липогидропероксид



Алканы

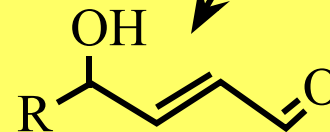


Альдегиды



Малоновый диальдегид

α -, β -ненасыщенные альдегиды

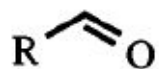


транс-4-гидроксиалкеналь



Алифатические альдегиды

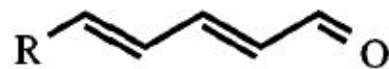
Биомаркеры - карбонилы



n-alkanals



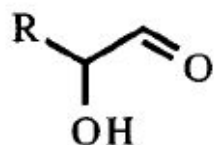
2-alkenals



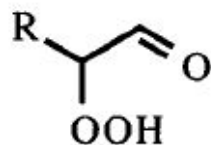
2,4-alkadienals



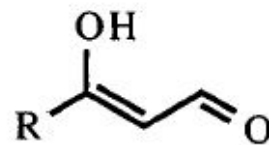
MDA



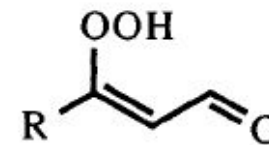
α -hydroxyalkanals



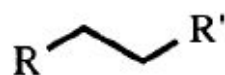
hydroperoxyalkanals



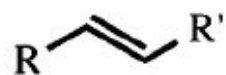
4-hydroxyalkenals



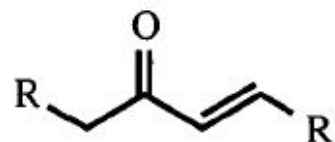
4-hydroperoxyalkenals



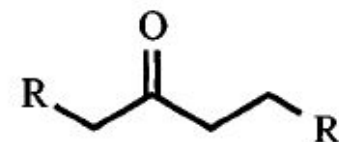
alkanes



alkenes



unsaturated ketones



saturated ketones

Fig. 6. Stable carbonyls formed following peroxidation of ω -3 and ω -6 fatty acids.

Кинетика образования изопростановых биомаркеров у крыс при отравлении четыреххлористым углеродом

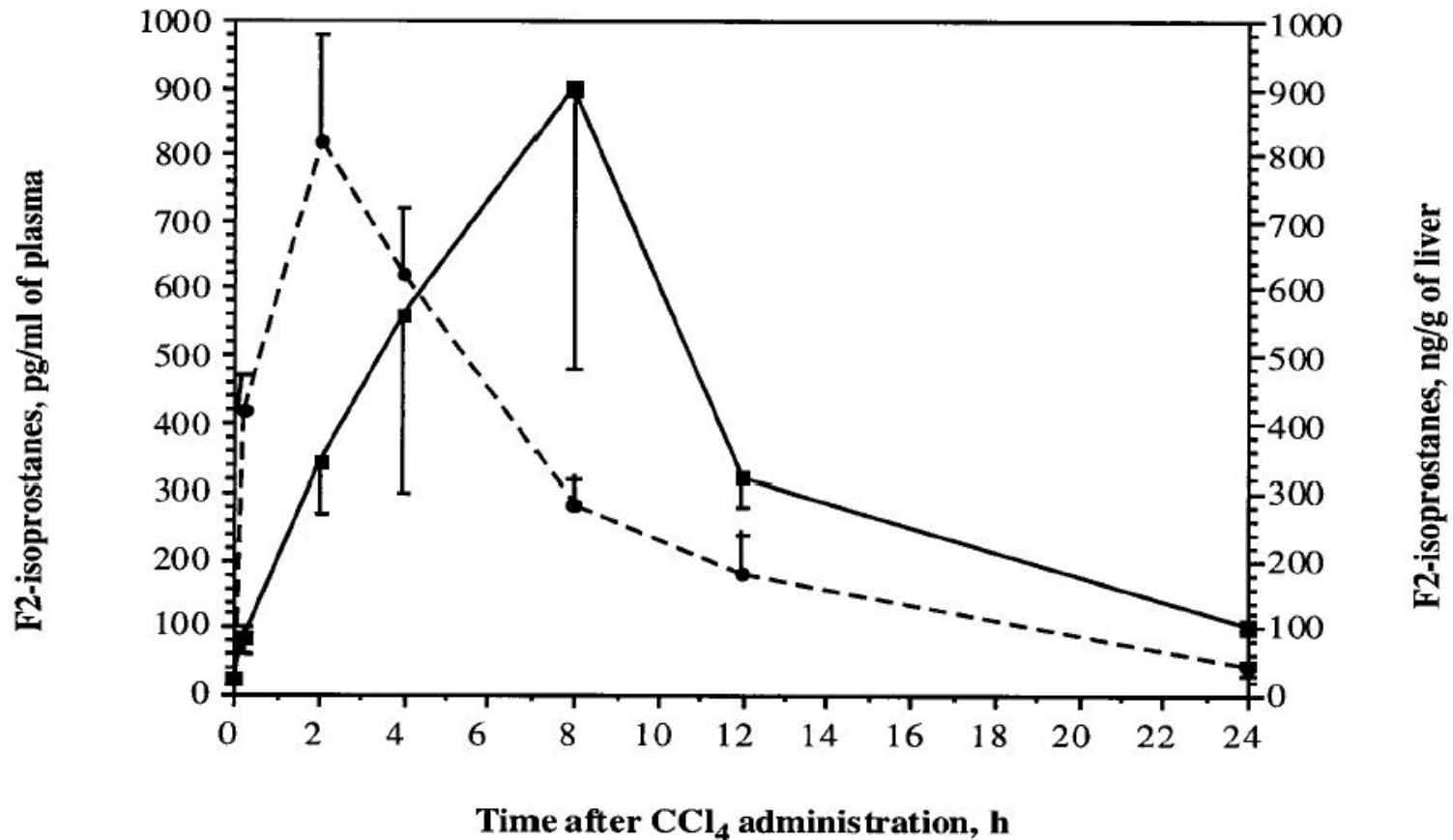


Fig. 3. Time course of appearance of lipid-associated F₂-isoprostanes in liver (●) and free F₂-isoprostanes in the circulation (■) of rats after intragastric administration of CCl₄ (1 ml/kg). Each time point represents the mean ± SD of levels of measured in at least four animals (replot of data from ref. 77).

Биомаркеры у курильщиков

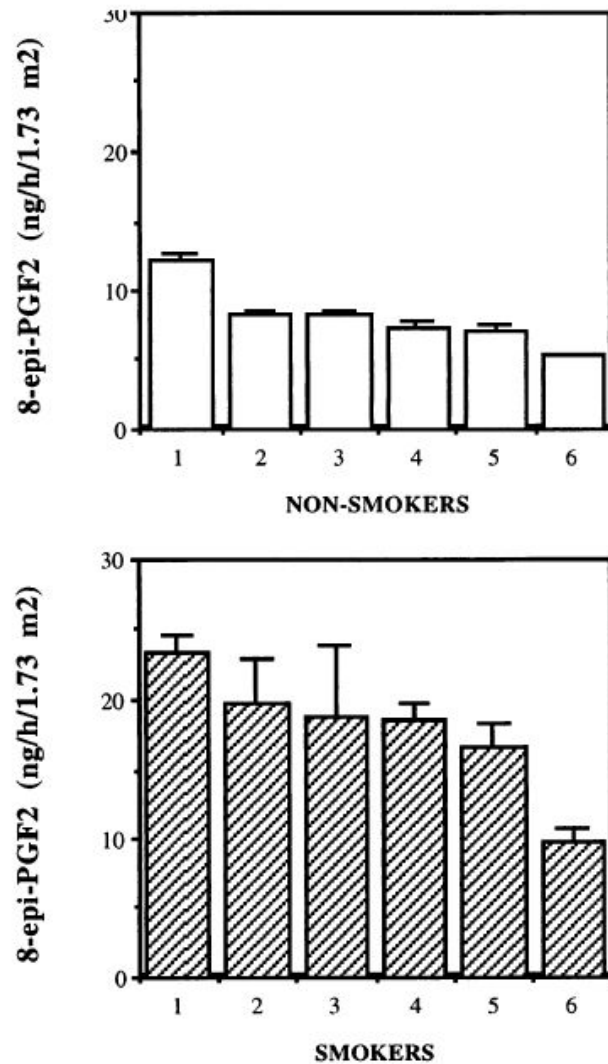
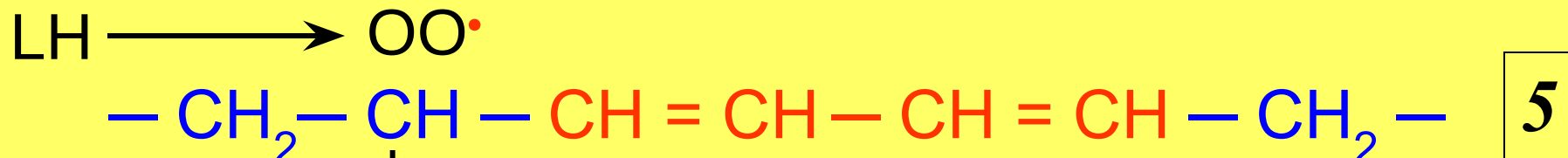
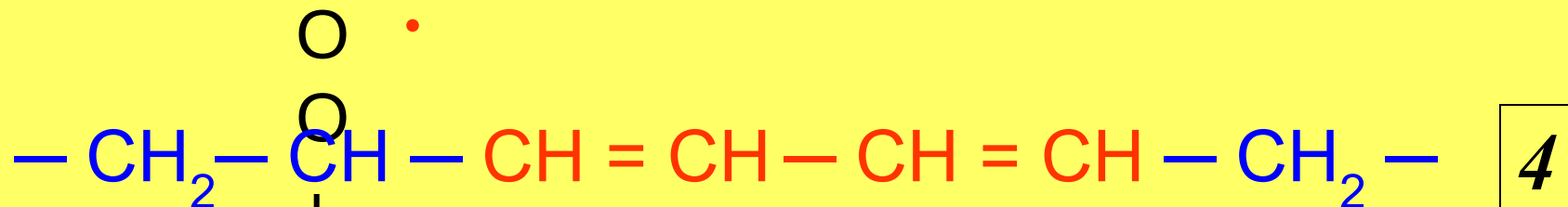
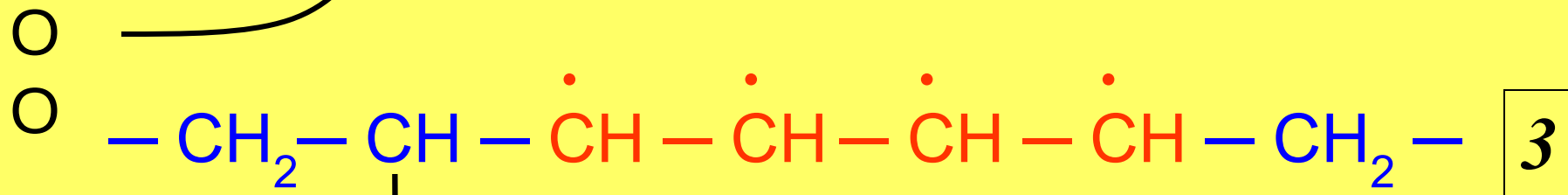
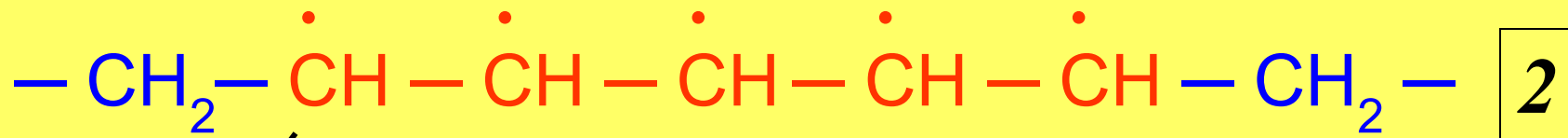
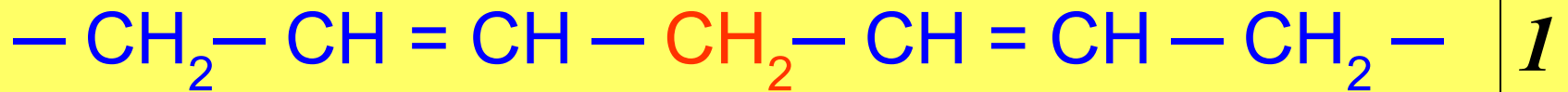


Fig. 5. Urinary excretion of 8-epi-PGF_{2α} in non-smoking and smoking healthy volunteers. Each bar represents the mean individual value (\pm SD) based on 6 h urine collections on different days ($n = 3$) (data replotted from Bachi et al. [92]).

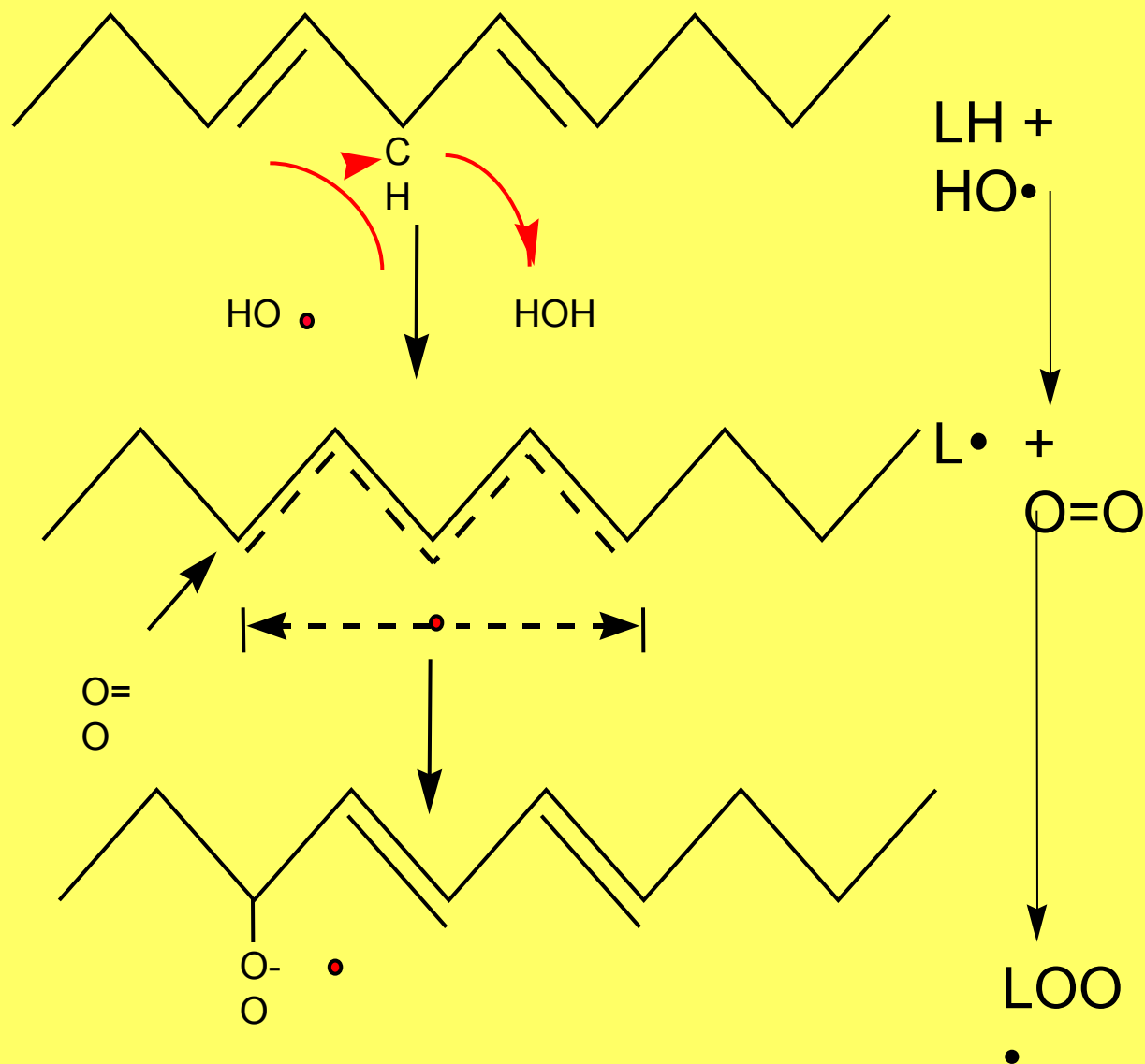
**Биохимические методы
изучения свободных радикалов**

Диеновая конъюгация

Другая форма изображения диеновой конъюгации

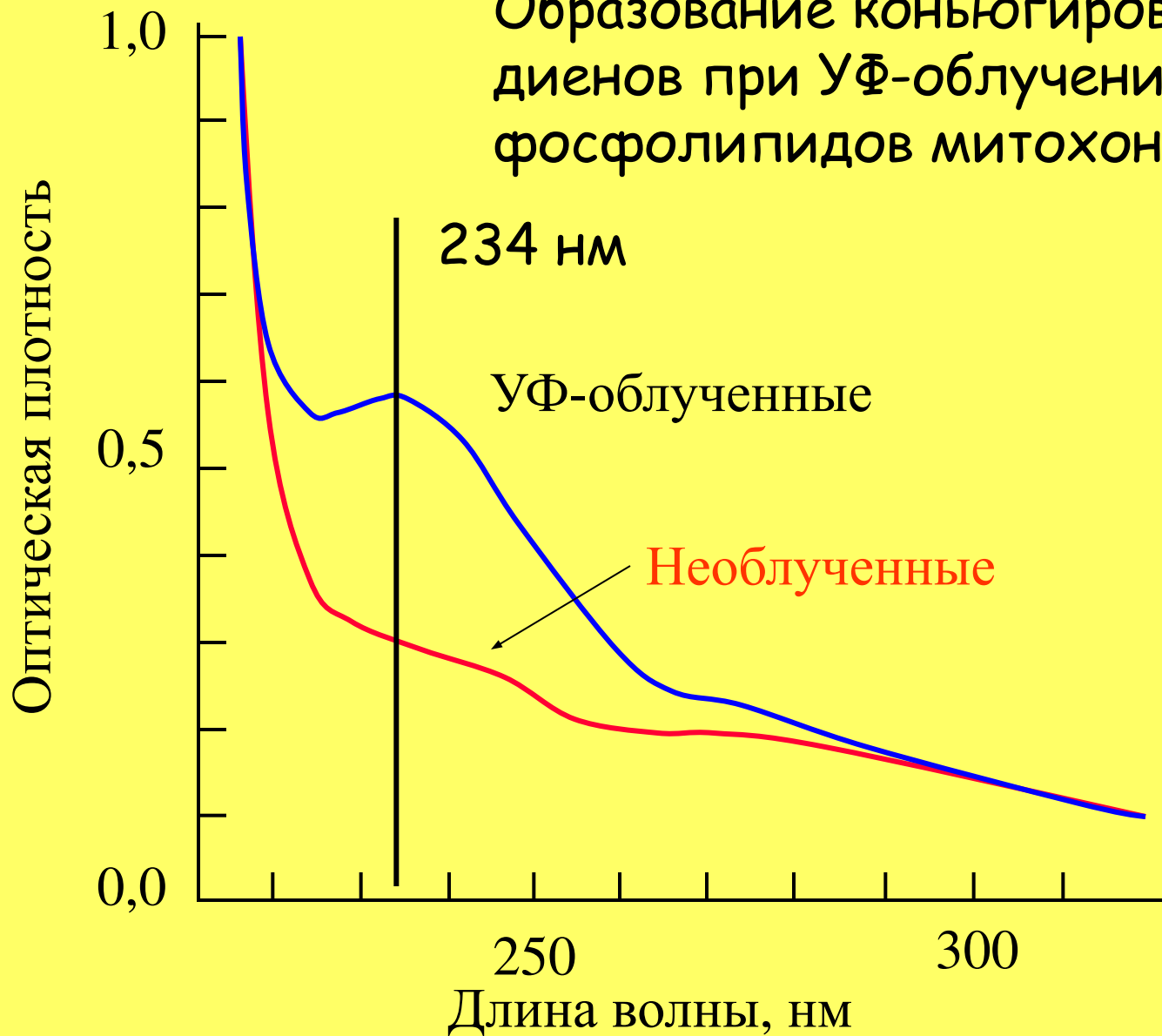


Третий способ изображения процесса диеновой конъюгации



Спектры диеновых конъюгатов

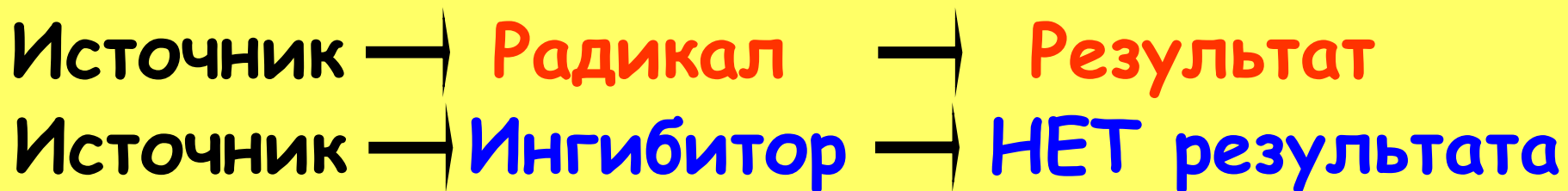
Образование конъюгированных диенов при УФ-облучении фосфолипидов митохондрий



**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.