

Volné radikály ve fyziologii živočichů

RNDr. Milan Číž, Ph.D.

RNDr. Antonín Lojek, CSc.

Mgr. Lukáš Kubala, Ph.D.

Laboratoř patofyziologie volných radikálů

Biofyzikální ústav Akademie věd ČR

Volné radikály ve fyziologii živočichů

1. Chemie volných radikálů, historie kyslíku na Zemi
2. Zdroje a tvorba volných radikálů
3. Antioxidační obranné mechanismy
4. Oxid dusnatý – tvorba a funkce
5. Fagocyty, myeloperoxidasa, NADPH oxidasy
6. Volné radikály ve fyziologických regulacích
7. Oxidativní poškození biologicky důležitých molekul
8. Volné radikály a ateroskleróza
9. Úloha volných radikálů u vybraných nemocí
10. Volné radikály a stárnutí
11. Metody stanovení oxidativního stresu
12. Seminář

Doporučená literatura

Štípek S. a kol.: Antioxidanty a volné radikály ve zdraví a nemoci. Grada Publishing, Avicenum, 2000.

Ďuračková Z. a kol.: Volné radikály a antioxidanty v medicíne (1, 2). SAV Bratislava, 1998-1999.

Halliwell B., Gutteridge J.M.C.: Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, 1999.

Gutteridge J.M.C., Halliwell B.: Antioxidants in nutrition, health, and disease. Oxford University Press, 1995.

Doporučená literatura

Free Radical Biology and Medicine

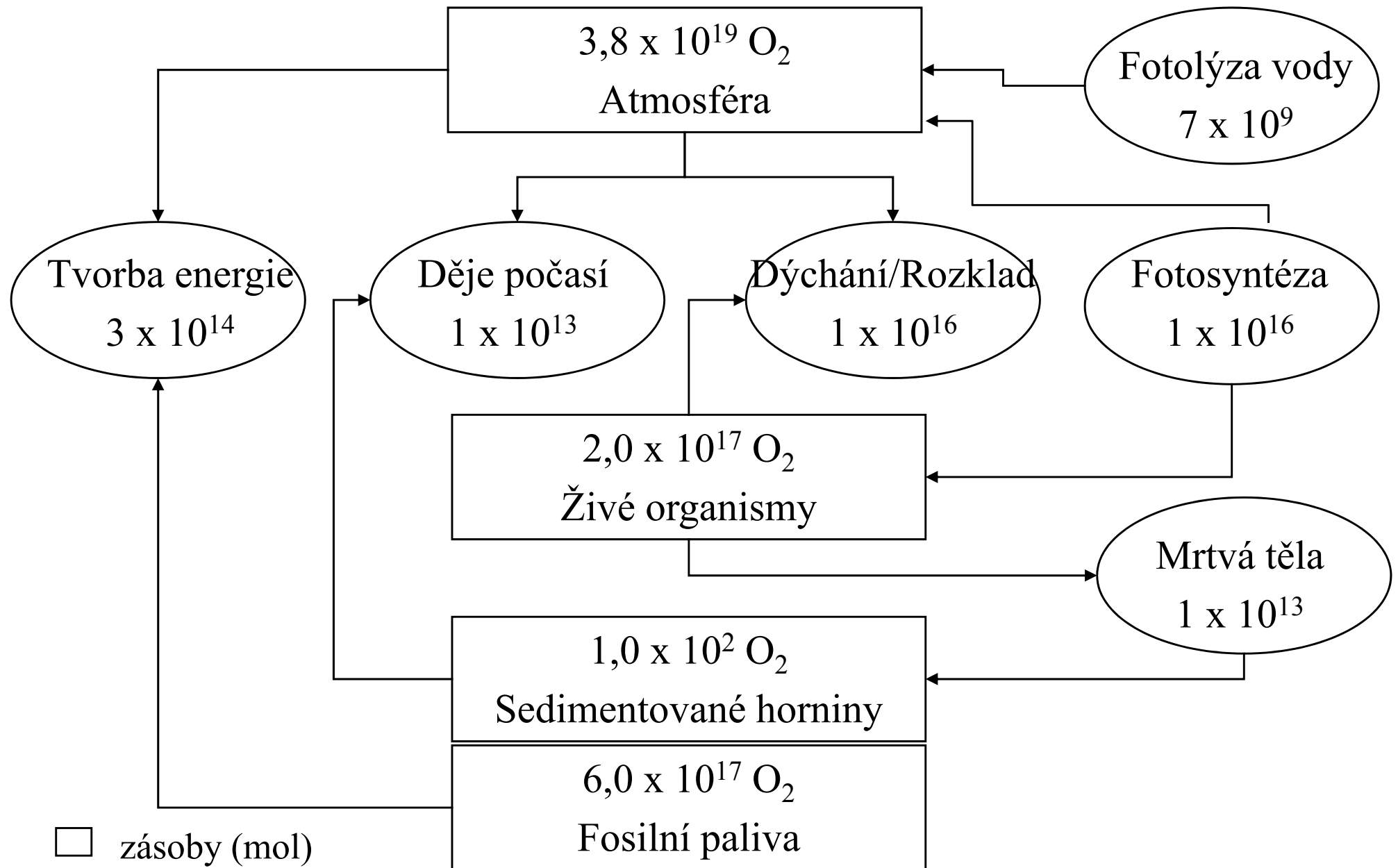
Free Radical Research

Redox Report

Nitric Oxide

Antioxidants and Redox Signalling

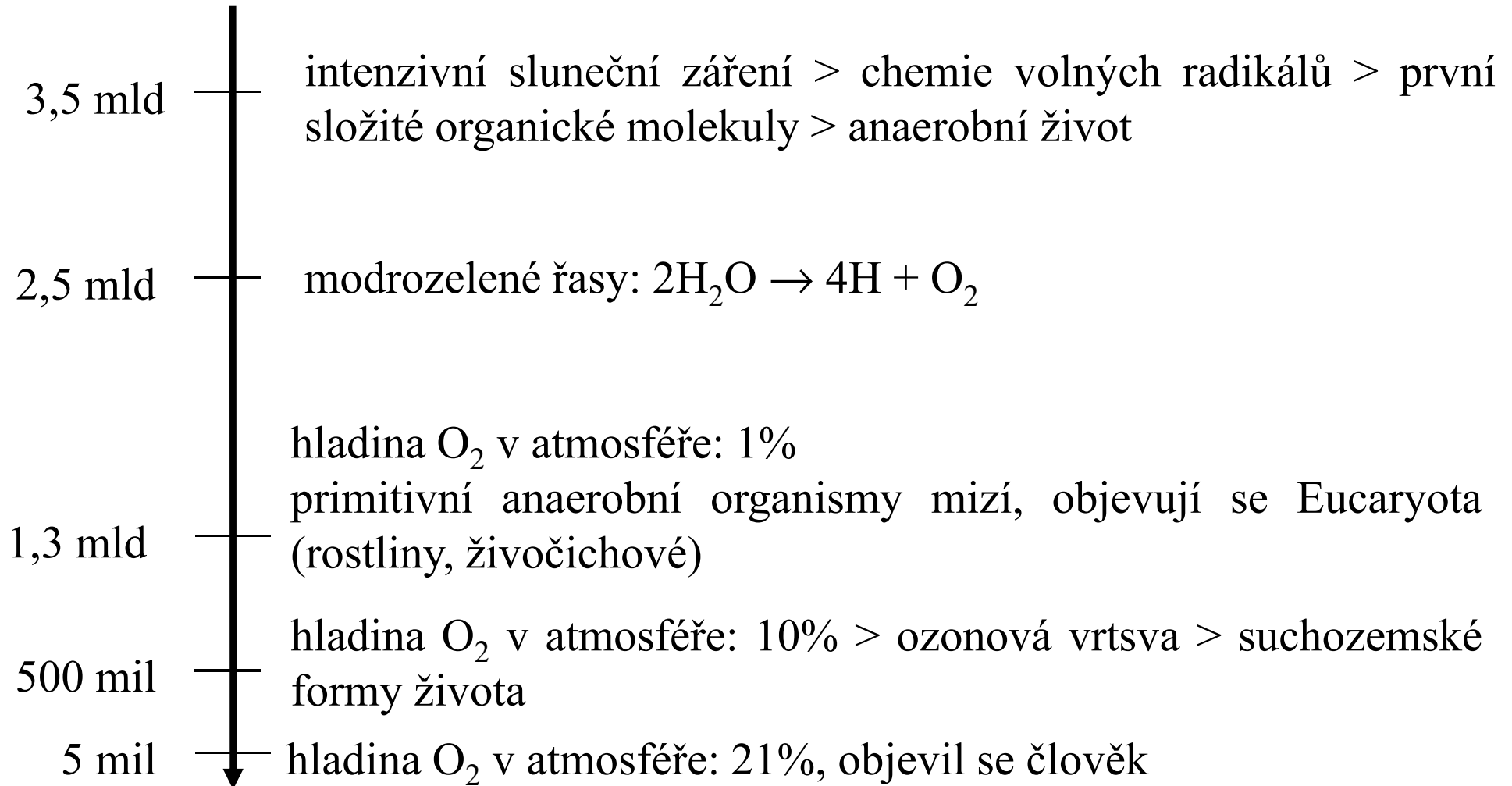
Koloběh kyslíku



□ zásoby (mol)

○ toky (mol/rok)

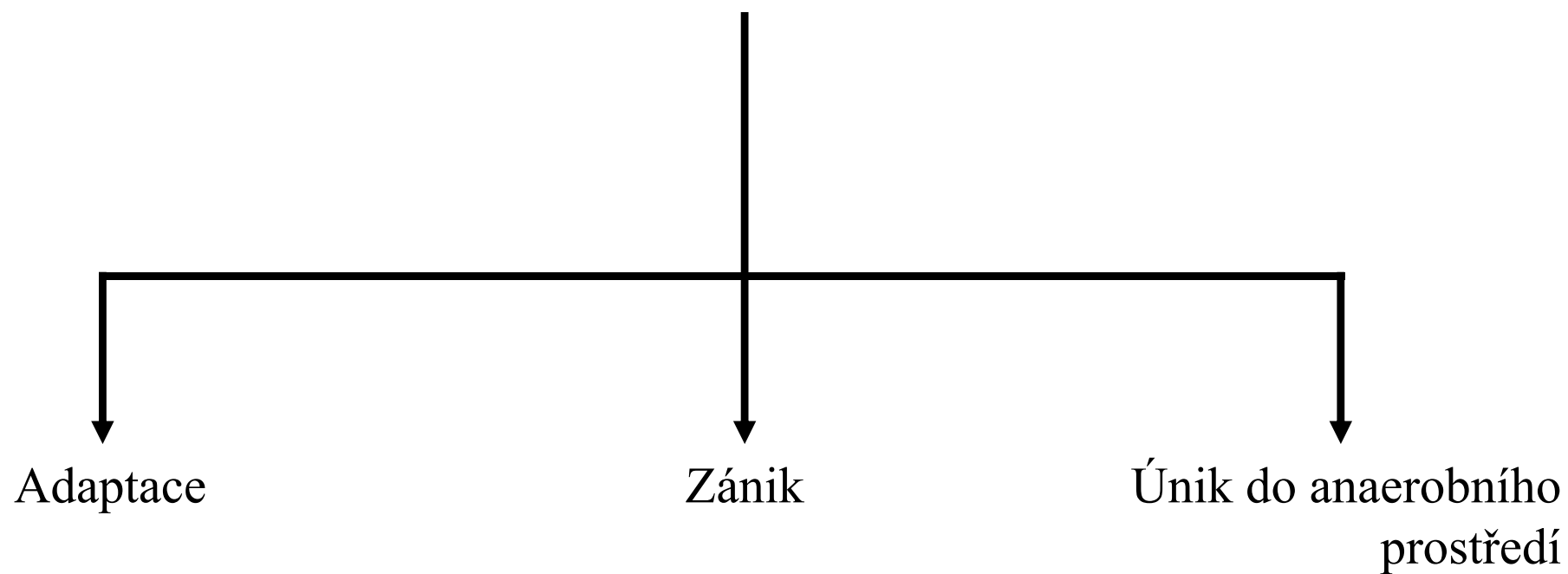
Historie kyslíku na Zemi



Adaptace organismů na kyslík

PRVNÍ ŽIVÉ ORGANISMY

Anaerobní



Adaptace organismů na kyslík

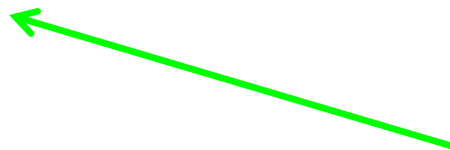
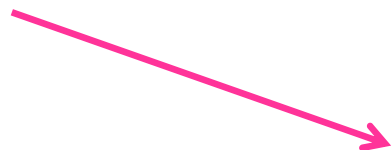
- enzymy využívající kyslík a transportní řetězce elektronů
- účinnější oxidace složek potravy, vytvářející více energie na jednotku hmoty potravy
- antioxidační obranné mechanismy

Dýchání a fotosyntéza

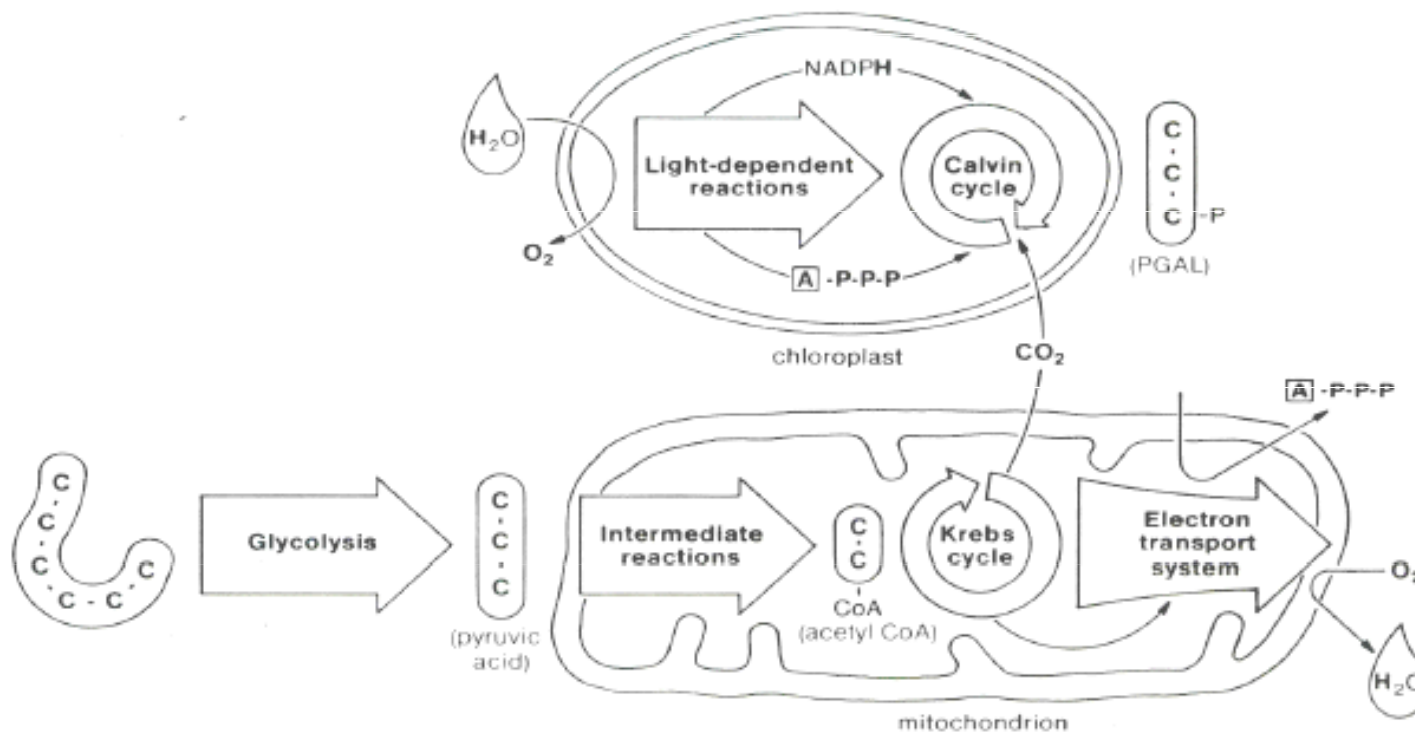
glykolýza a respirace



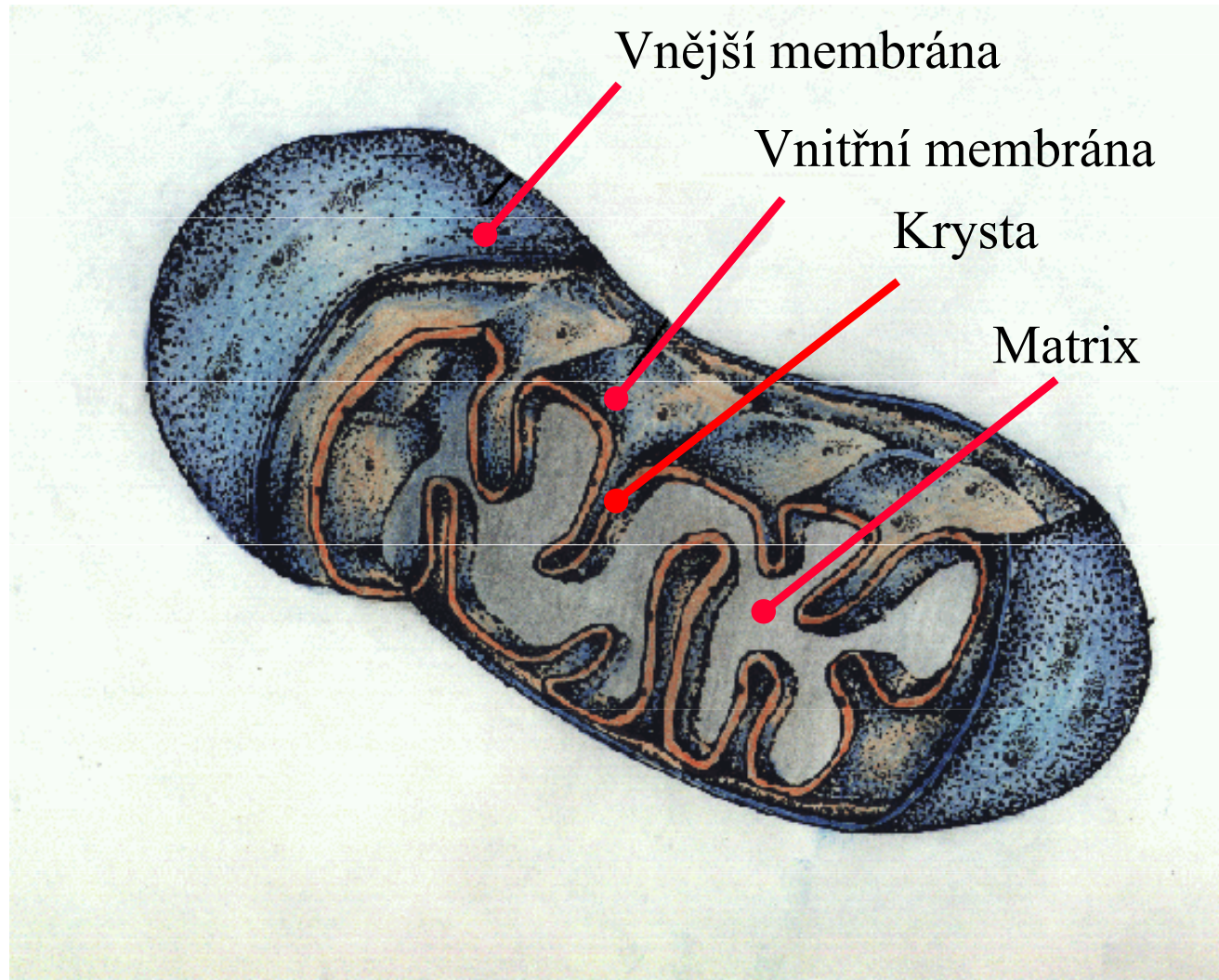
fotosyntéza



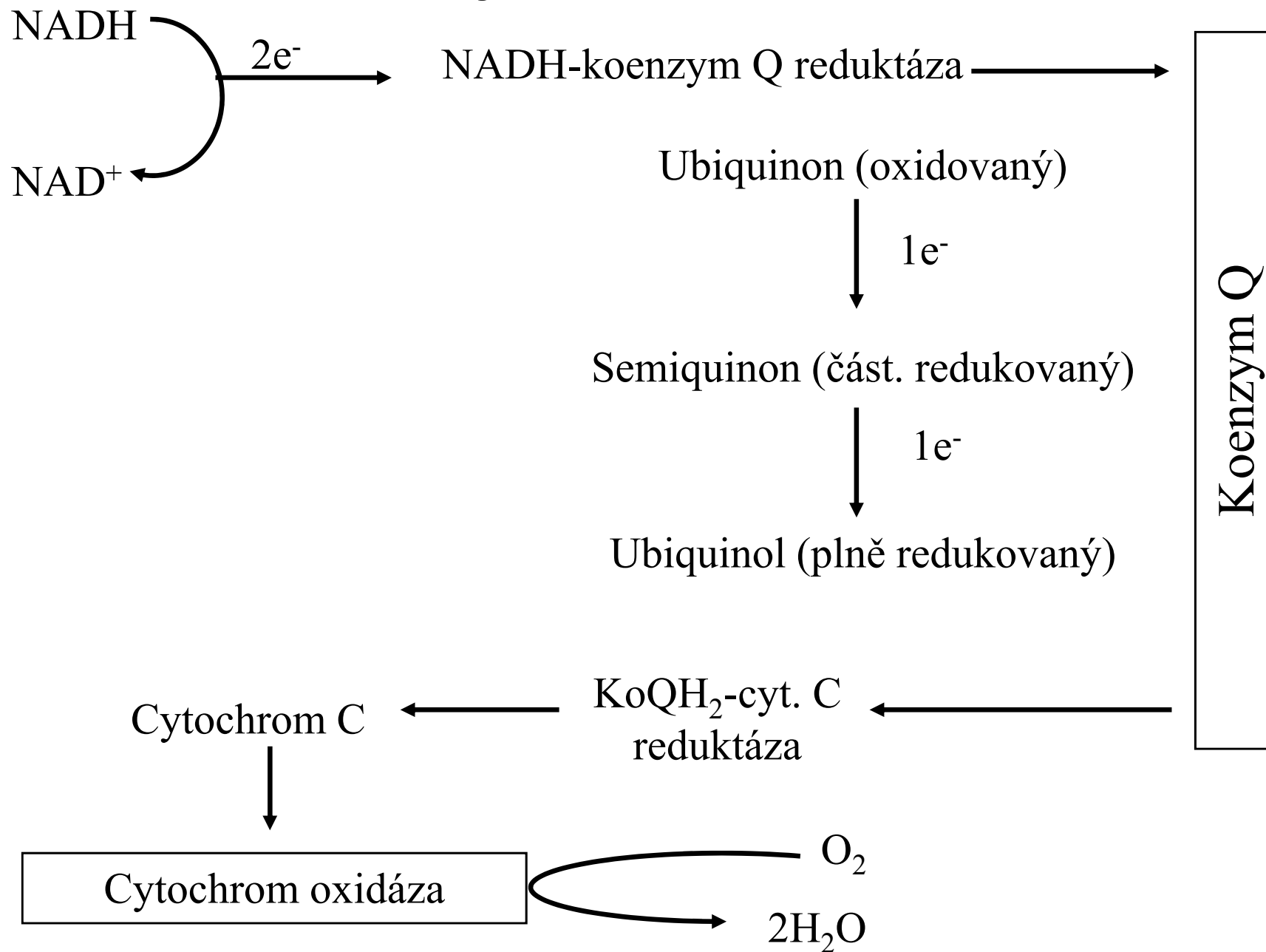
Dýchání a fotosyntéza



Mitochondrie



Dýchací řetězec



Antioxidační obranné mechanismy

Antioxidant = jakákoliv látka, která oddaluje nebo inhibuje oxidativní poškození cílové molekuly

Látka, označovaná jako antioxidant by měla splňovat následující kritéria:

- musí mít schopnost reagovat s biologicky odpovídajícími oxidanty a radikály
- produkt odvozený z její reakce s radikálem musí být fyziologicky méně nebezpečný než odstraněný radikál
- musí být přítomna v dostatečně vysoké koncentraci alespoň v určitých tkáních, aby mohla zajistit kvantitativně odpovídající úroveň reakce

Antioxidační obranné mechanismy

Primární antioxidanty:

Prevence tvorby volných radikálů

Sekundární antioxidanty:

Vychytávání a odstranění vytvořených volných radikálů

Terciární antioxidanty:

Náprava oxidativního poškození makromolekul

Primární antioxidanty

Pevence tvorby volných radikálů:

- Vyvážení iontů přechodných kovů
- Regulace aktivity enzymů

Sekundární antioxidanty

- Kompartmentalizace volných radikálů
- Vychytávače volných radikálů
 - Antioxidační enzymy (SOD, kataláza, glutathion peroxidáza a glutathion reduktáza)
 - Nízkomolekulární antioxidanty (glutathion, kys. močová, vitaminy, apod.)

Terciární antioxidanty

Oprava oxidačního poškození

- **DNA**

- glykosylázy specifické pro určité oxidované báze
- nespecifické excision opravné enzymy

- **Proteiny**

- proteolytické enzymy

- **Lipidové hydroperoxydy**

- glutathion peroxidáza

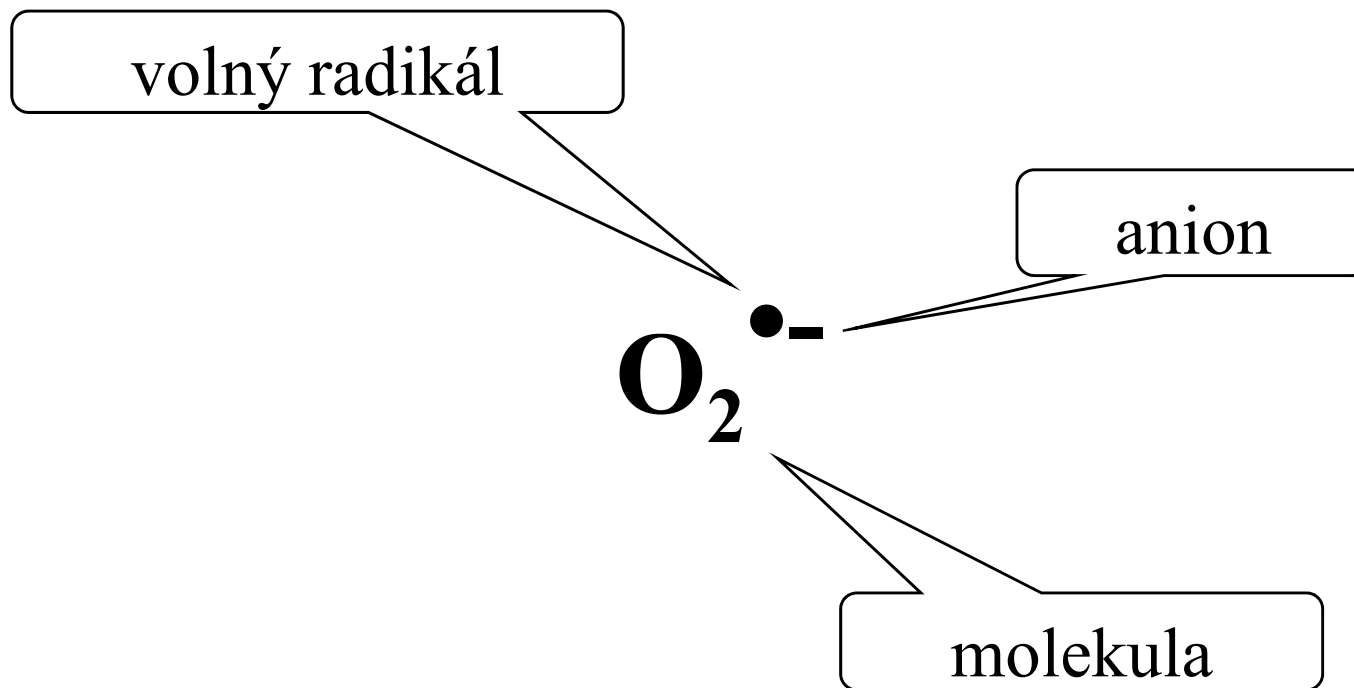
Co je volný radikál?

- nepárový elektron ve vnějších valenčních orbitalech
- lichý počet elektronů
- relativně vysoká reaktivita

Jak značíme volný radikál?



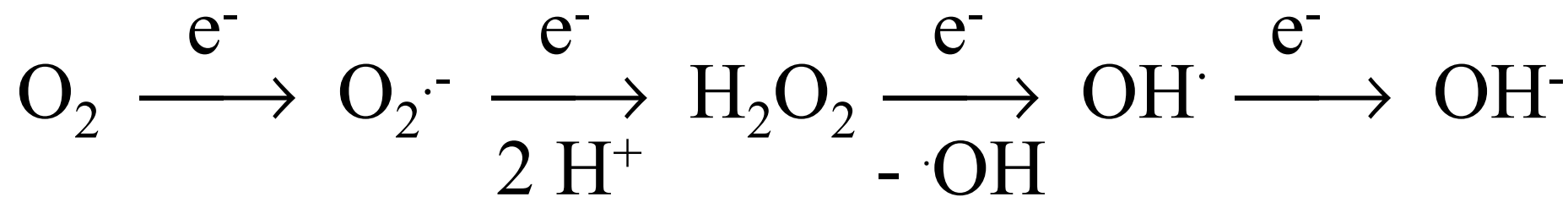
Jak značíme volný radikál?



Reaktivní formy kyslíku a dusíku

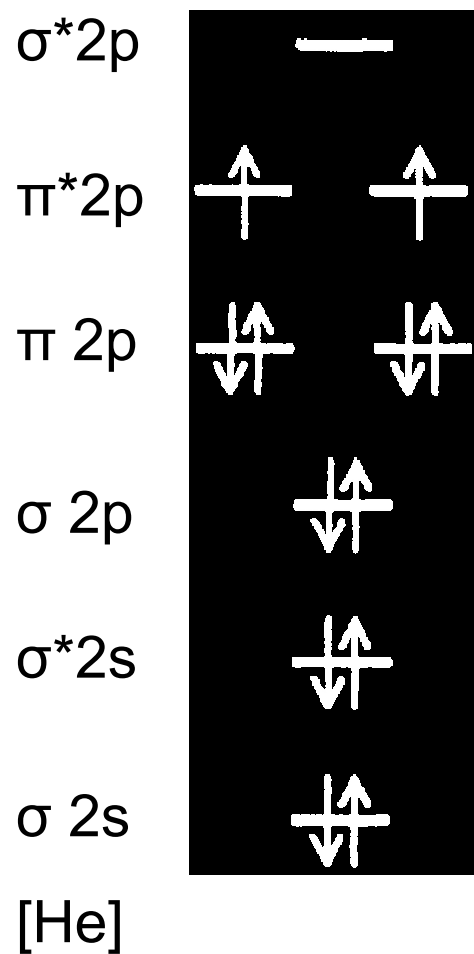
Volné radikály		Látky neradikálové povahy	
Reaktivní formy kyslíku			
Superoxid	$O_2^{\bullet-}$	Peroxid vodíku	H_2O_2
Hydroxylový radikál	HO^{\bullet}	Kyselina chlorná	$HOCl$
Alkoxylový radikál	RO^{\bullet}	Ozon	O_3
Peroxylový radikál	ROO^{\bullet}	Singletový kyslík	1O_2
Reaktivní formy dusíku			
Oxid dusnatý	NO^{\bullet}	Peroxynitrit	$ONOO^-$
Oxid dusičitý	NO_2^{\bullet}	Dusitany	NO_2^-
		Dusičnany	NO_3^-
		Nitrosyl	NO^+

Reaktivní formy kyslíku

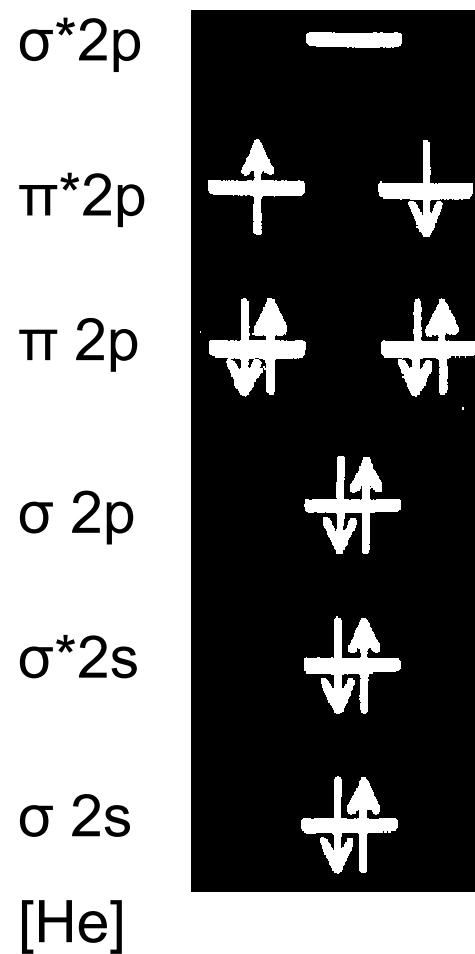


Reaktivní formy kyslíku

Molekulární kyslík - $^3\Sigma\text{O}_2$



Singletový kyslík - $^1\Sigma\text{O}_2$



Odhadované poločasy rozpadu volných radikálů v biologických systémech

Reaktivní metabolit kyslíku (dusíku)		$t_{1/2}$ [sec]
Hydroxylový radikál	HO•	10^{-9}
Alkoxylový radikál	RO•	10^{-6}
Peroxylový radikál	ROO•	10^{-1}
Oxid dusnatý	NO•	1 - 10
Peroxynitrit	ONOO ⁻	0,05 - 1

Redukční potenciály některých RMK

Vysoce redukční

Vysoce oxidační

Oxidovaná/redukovaná forma	Redukční potenciál (V)
H ₂ O / hydratovaný elektron	-2,84
O ₂ , H ⁺ / HO ₂ •	-0,46
Fe ³⁺ -transferrin / Fe ²⁺	-0,40
O ₂ / O ₂ • ⁻	-0,33
NAD ⁺ , H ⁺ / NADH	-0,32
Fe ³⁺ -ferritin / Fe ²⁺	-0,19
Ubiquinone / Ubisemiquinone	-0,04
H ₂ O ₂ , H ⁺ , / H ₂ O, HO•	0,32
O ₂ • ⁻ , 2H ⁺ / H ₂ O ₂	0,94
ROO•, H ⁺ / ROOH	0,77 – 1,44
RO•, H ⁺ / ROH	1,60
HO•, H ⁺ / H ₂ O	2,31

Redukční potenciály některých RMD

Vysoce redukční

Vysoce oxidační



Oxidovaná/redukována forma	Redukční potenciál (V)
$\text{NO}\cdot / \text{NO}^-$	0,39
$\text{NO}_2\cdot / \text{NO}_2^-$	0,99
$\text{NO}^+ / \text{NO}\cdot$	1,21
$\text{NO}_2^+ / \text{NO}_2\cdot$	1,60
$\text{ONOOH} / \text{NO}_2\cdot$	2,10
$\text{HO}\cdot, \text{H}^+ / \text{H}_2\text{O}$	2,31

Vznik a zánik radikálů

Oxidace

Redukce

Homolytické štěpení kovalentní vazby

záření (např. UV)

mikrovlnné záření

ultrazvuk?

Oxidace vs. redukce

Oxidace	nabytí kyslíku	$C + O_2 \Rightarrow CO_2$
	ztráta elektronu	$O_2^{\bullet-} \Rightarrow O_2 + e^-$
Redukce	ztráta kyslíku	$CO_2 + C \Rightarrow 2CO$
	nabytí vodíku	$C + 2H_2 \Rightarrow CH_4$
	nabytí elektronu	$O_2 + e^- \Rightarrow O_2^{\bullet-}$

Oxidační činidlo: oxiduje jinou látku (odebírání jí elektron, odebírání vodík, nebo poskytuje kyslík)

Redukční činidlo: redukuje jinou látku (poskytuje jí elektron, vodík, nebo odebírání kyslík)

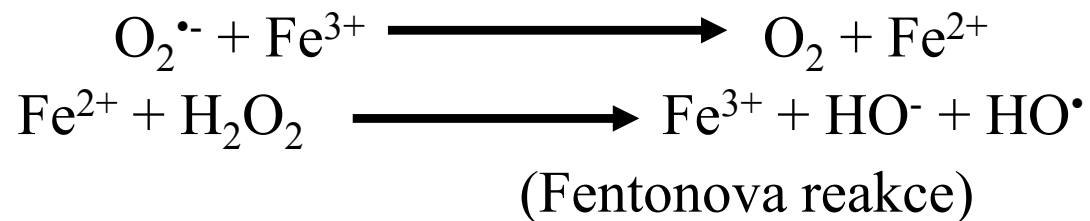
Ionty přechodných kovů a volné radikály

Haber – Weissova reakce:



Přechodnými kovy katalyzovaná

Haber – Weissova reakce:

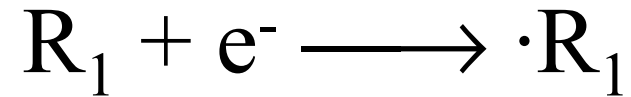


Dismutate ROS



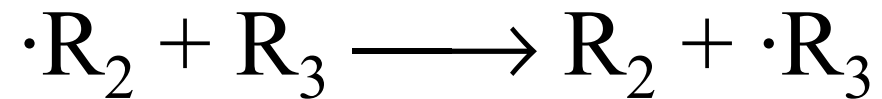
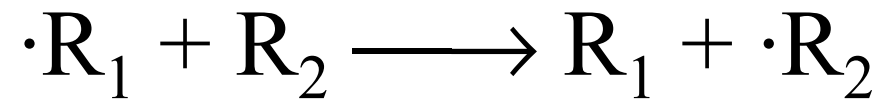
Reaktivita ROS

- Iniziace



- Propagace

...



...

- Terminace



Patofyziologie volných radikálů

FYZIOL. FUNKCE

ZDROJ

POŠKOZENÍ

oxidace
xenobiotik



Cyt. P-450



Energie



Mitochondrie



regulace
hladkého
svalstva



Endotel. buňky



destrukce
patogenů



Fagocyty



DNA
proteiny
lipidy
sacharidy

Oxidativní stres

Prooxidanty



Antioxidanty

