

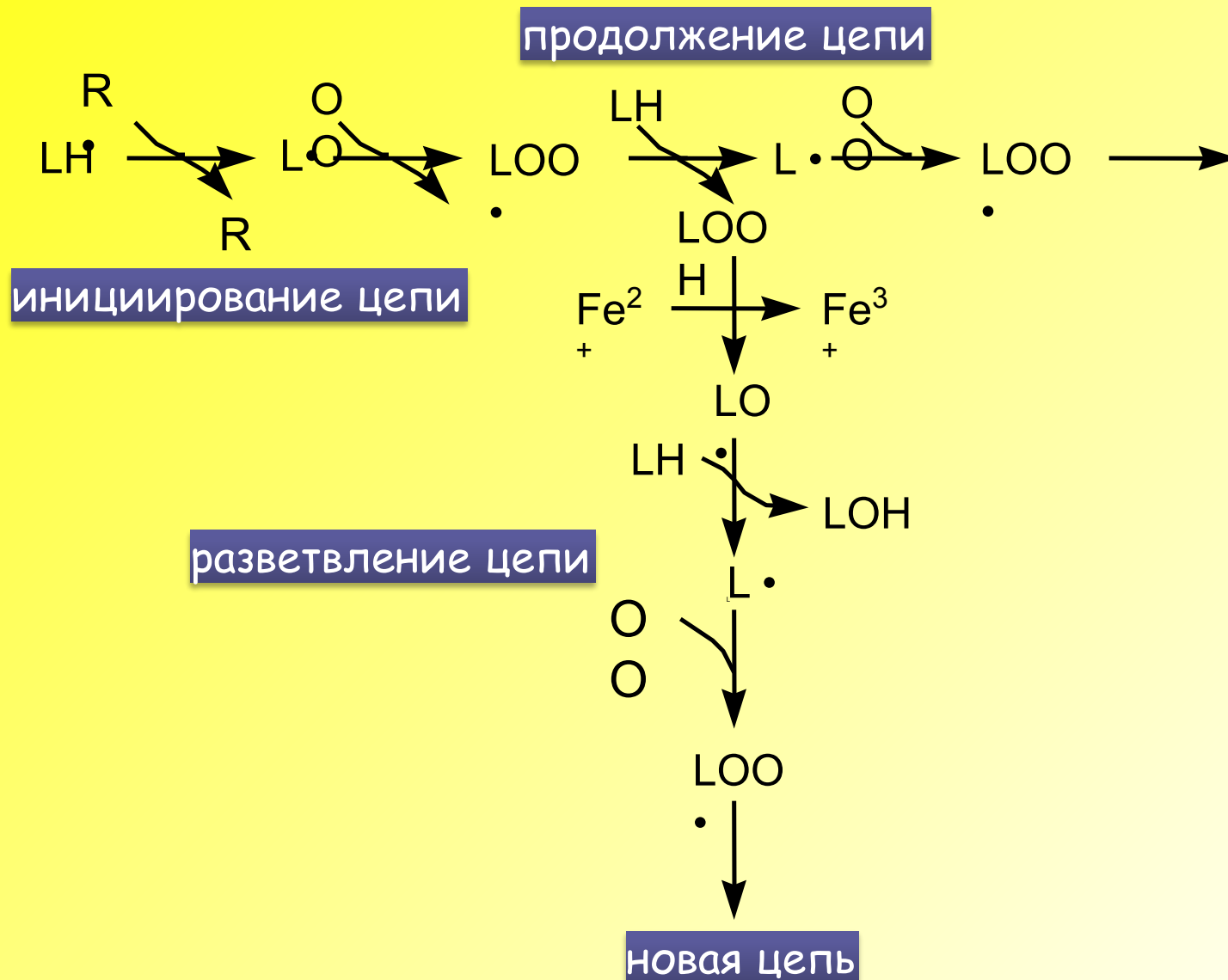
Биофизические основы патологии клетки

Свободные радикалы и болезни человека

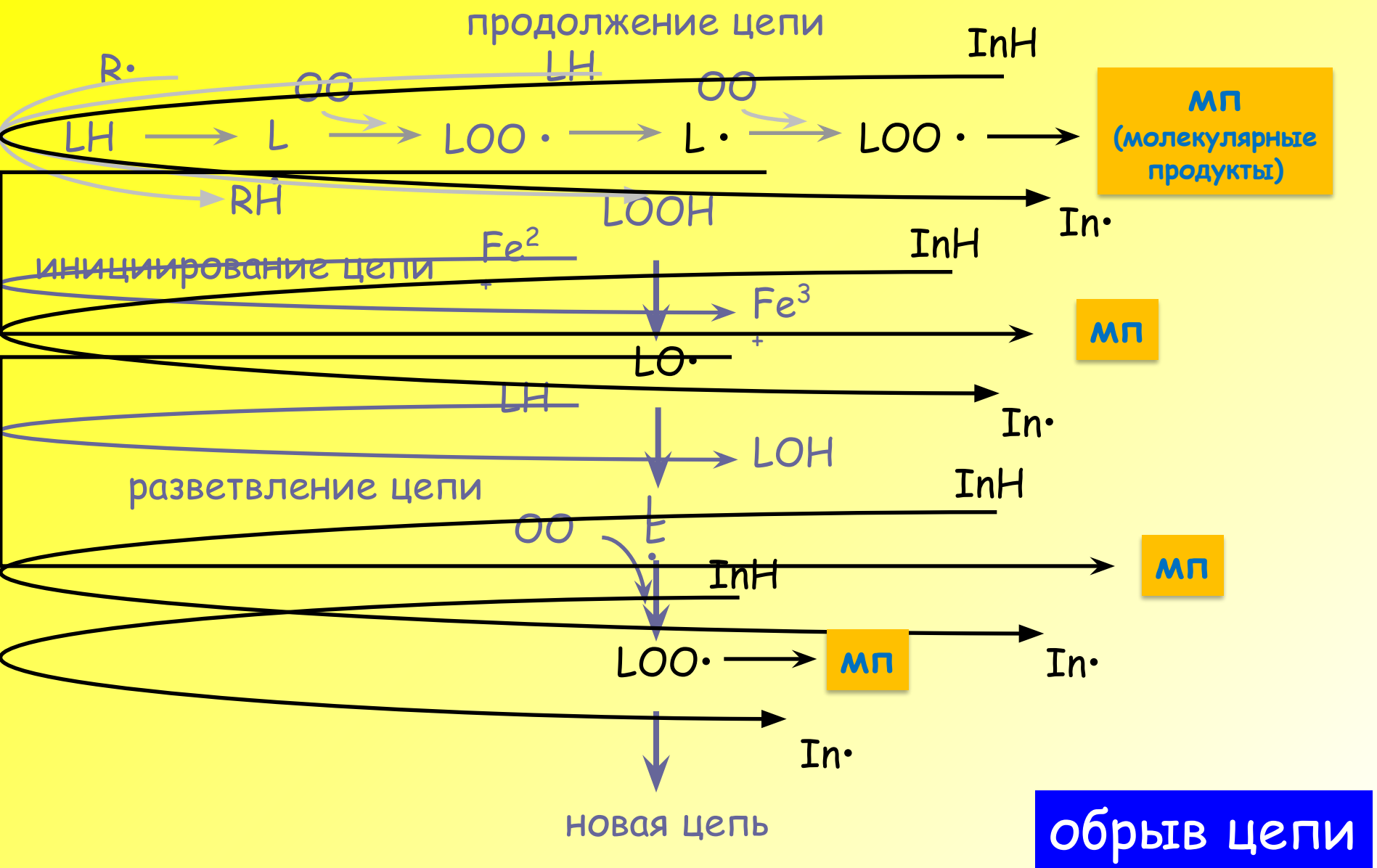
Ю.А. Владимиров, А.Н. Осипов
2018

**Перекисное
Окисление
Липидов**

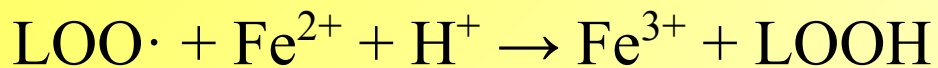
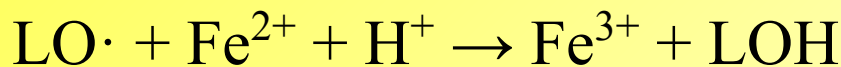
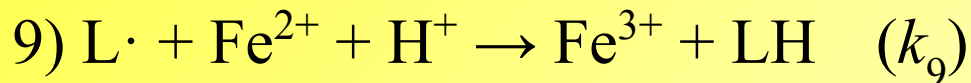
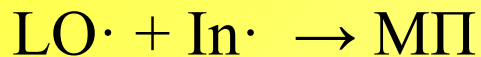
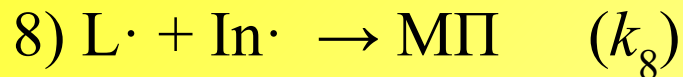
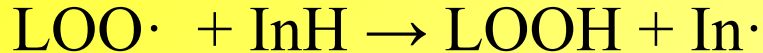
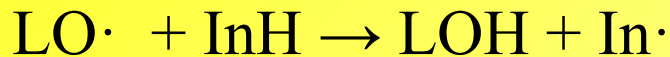
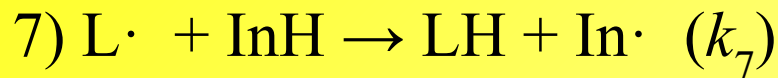
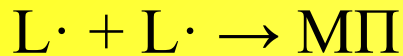
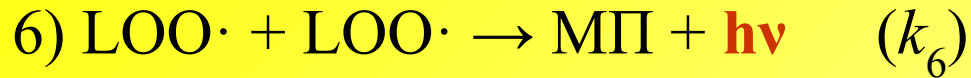
Общая схема реакций перекисного окисления ЛИПИДОВ



Реакции перекисного окисления липидов: обрыв цепи



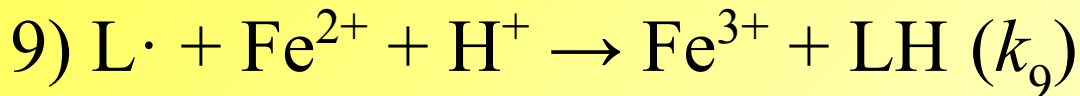
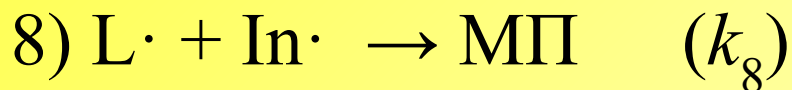
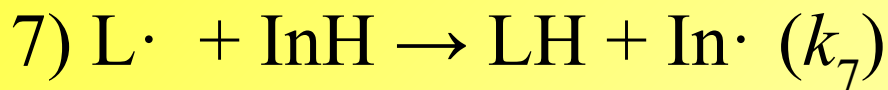
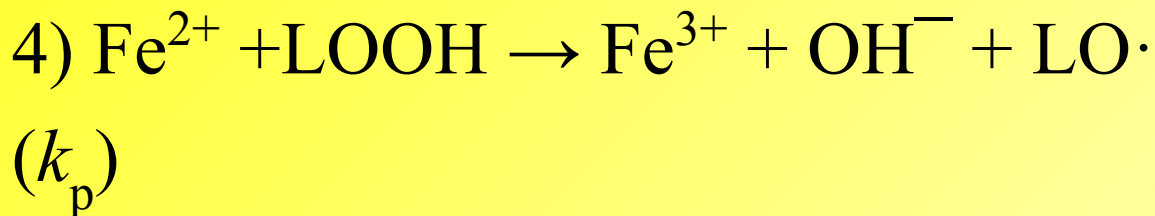
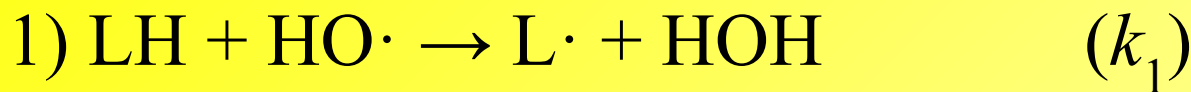
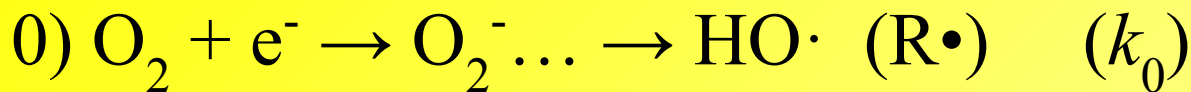
Уравнения реакций цепного окисления липидов



обрывцепи

Анализ кинетики ПОЛ

Уравнения реакций цепного окисления липидов



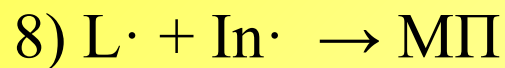
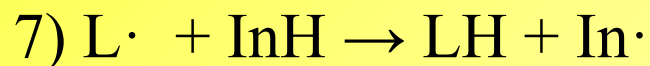
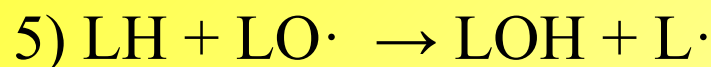
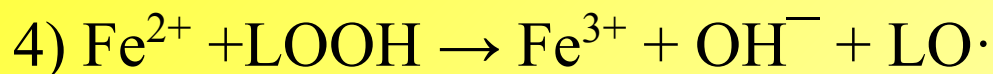
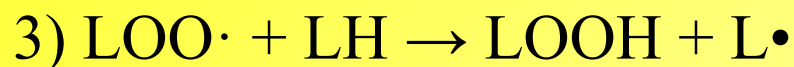
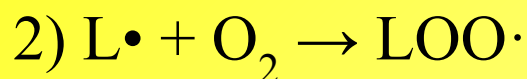
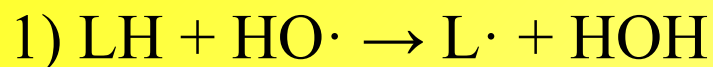
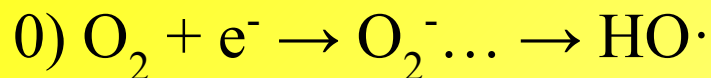
иницирование
цепи

продолжение
цепи

разветвление
цепи

обрыв
цепи

Уравнения реакций цепного окисления липидов



Скорости реакций

$$v_0 =$$

$$v_1 = k_1 [\text{LH}][\text{HO}\cdot]$$

$$v_2 = k_2 [\text{O}_2][\text{L}\cdot]$$

$$v_3 = k_3 [\text{LH}][\text{LOO}\cdot]$$

$$v_p = k_p [\text{Fe}^{2+}][\text{LOOH}]$$

$$v_5 = k_5 [\text{LH}][\text{LO}\cdot]$$

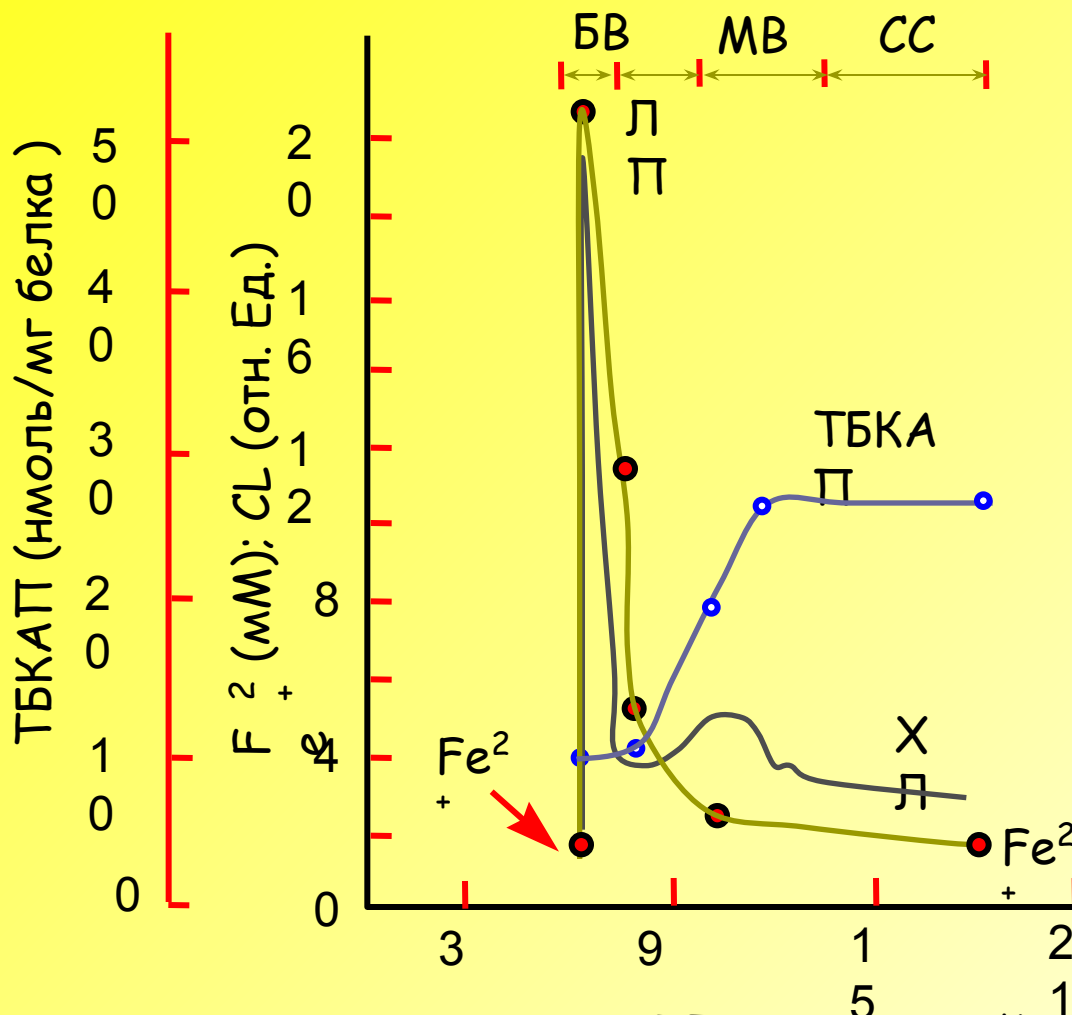
$$v_6 = k_6 [\text{LOO}\cdot]_2$$

$$v_7 = k_7 [\text{InH}][\text{L}\cdot]$$

$$v_8 = k_8 [\text{In}\cdot][\text{L}\cdot]$$

$$v_9 = k_9 [\text{Fe}^{2+}][\text{L}\cdot]$$

Кинетика перекисного окисления липидов



BV - быстрая вспышка; ЛП - латентный период;
 MB - медленная вспышка; CC - стационарное свечение

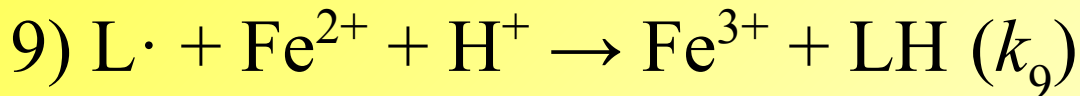
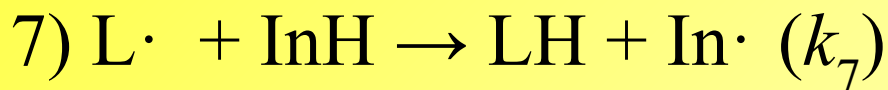
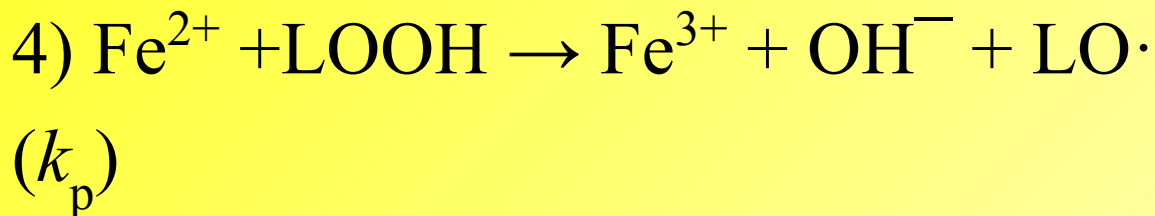
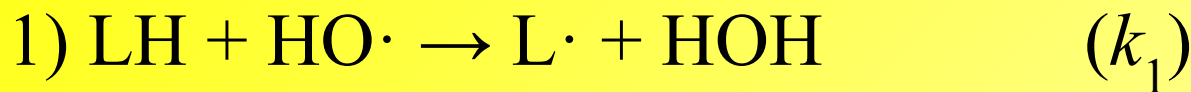
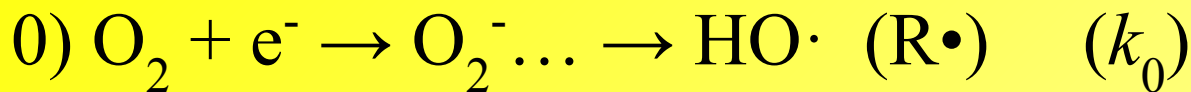
Упрощение схемы химических реакций

Для упрощения системы химических реакций используют два правила химической кинетики:

Правило 1: Скорость нескольких **последовательных** реакций равна скорости самой **медленной** из них

Правило 2: Скорость нескольких **параллельных** реакций в наибольшей мере определяется скоростью самой **быстрой** из них.
Иногда можно пренебречь остальными реакциями при расчетах.

Уравнения реакций цепного окисления липидов



иницирование
цепи

продолжение
цепи

разветвление
цепи

обрыв
цепи

Скорость нескольких **последовательных** реакций равна скорости самой **медленной** из них

Пример 1: Вместо двух реакций продолжения цепи:



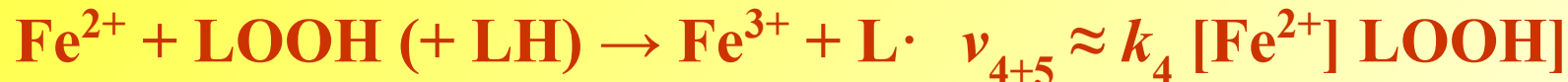
Пишем одну:



Пример 2: Вместо двух реакций разветвления цепи:



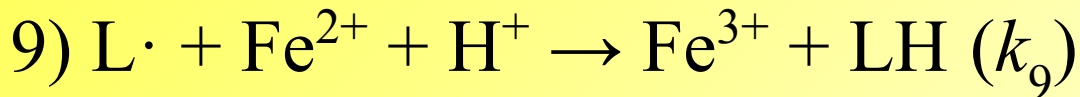
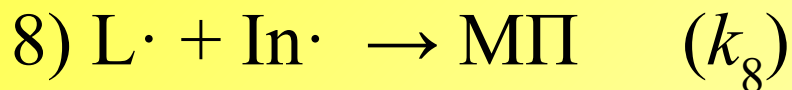
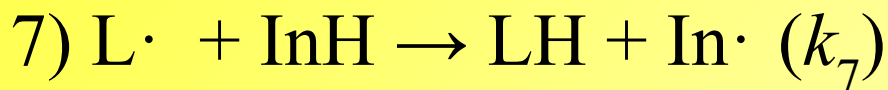
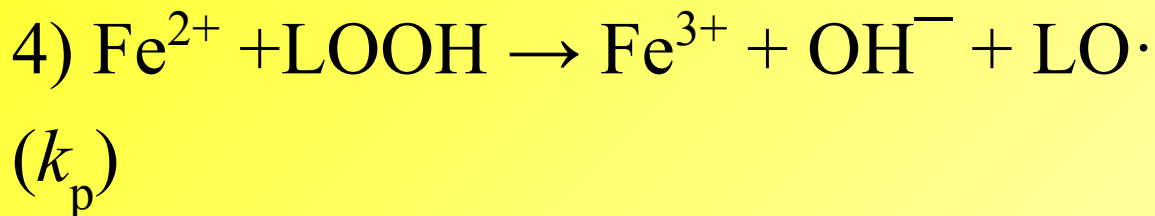
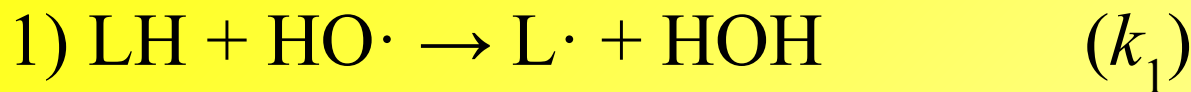
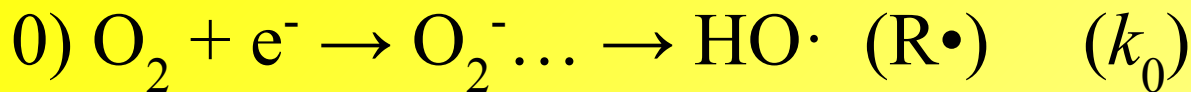
Пишем одну:



Примечание:

На кинетику процесса в целом не влияют те продукты, которые не участвуют в дальнейших реакциях. Поэтому на схеме реакций мы можем их не указывать.

Уравнения реакций цепного окисления липидов



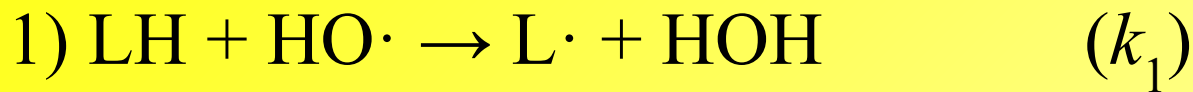
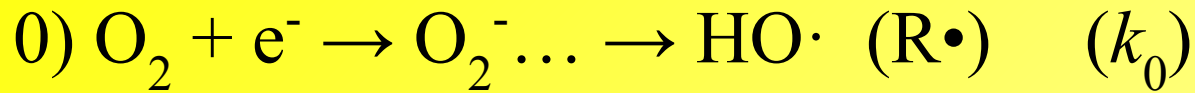
иницирование
цепи

продолжение
цепи

разветвление
цепи

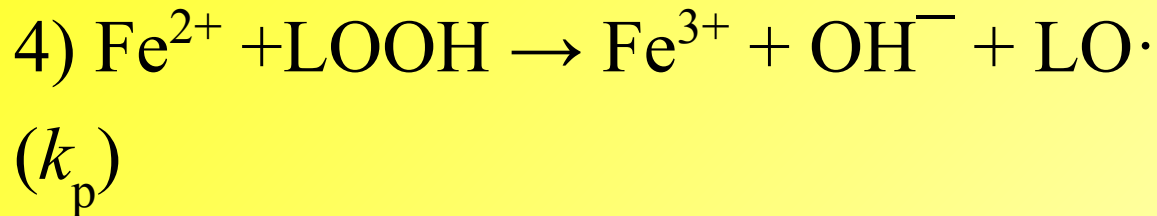
обрыв
цепи

Уравнения реакций цепного окисления липидов

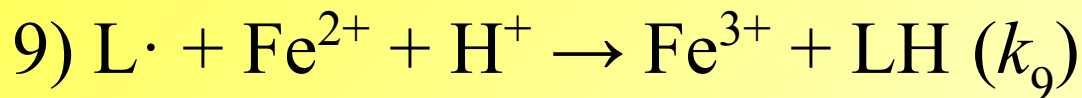
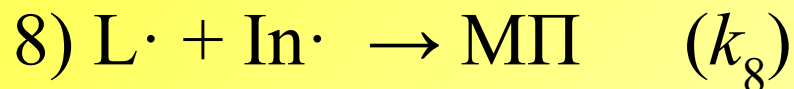
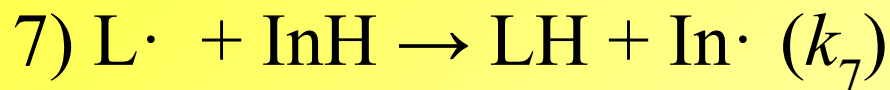
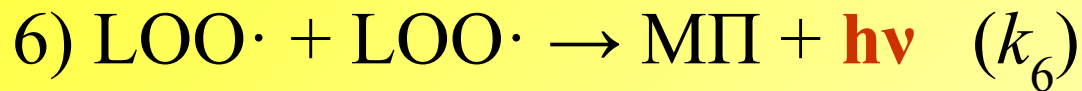


иницирование
цепи

продолжение
цепи



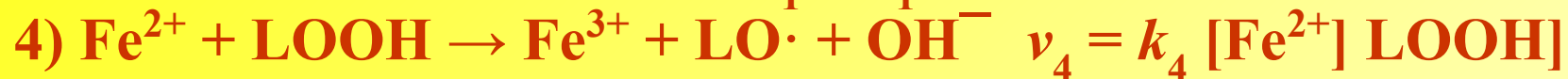
разветвление
цепи



обрыв
цепи

Скорость нескольких **параллельных** реакций в основном определяется самой **быстрой** из них

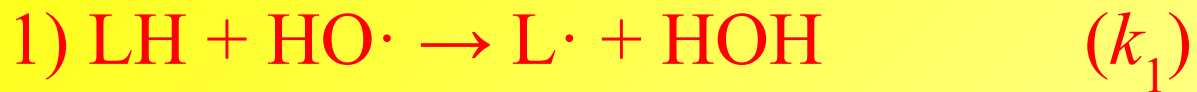
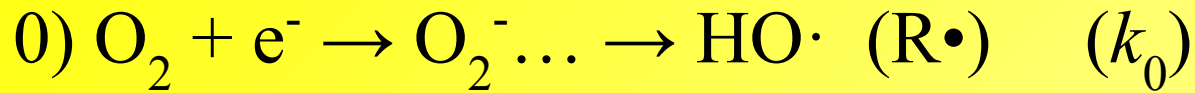
Пример 1: Скорость образования радикалов $L\cdot$ определяется двумя параллельно идущими реакциями:



При наличии Fe^{2+} скорость последней реакции гораздо выше, чем первой (т.к. концентрация $HO\cdot$ обычно бывает очень низкой). Поэтому основная масса радикалов образуется в реакции обрыва цепей:

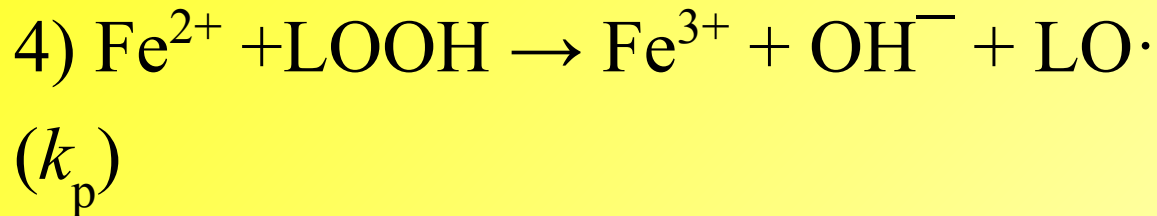


Уравнения реакций цепного окисления липидов

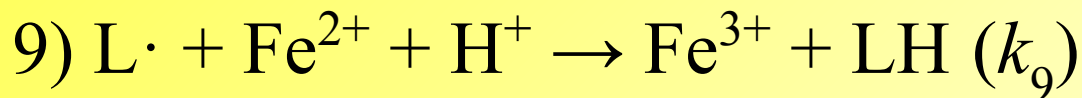
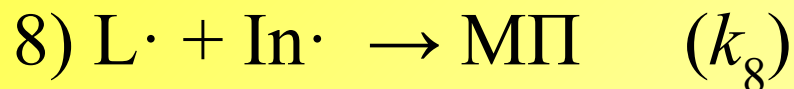
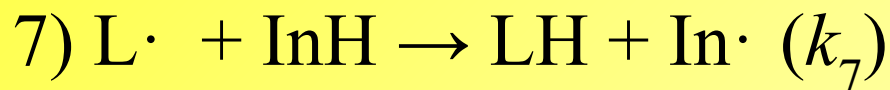
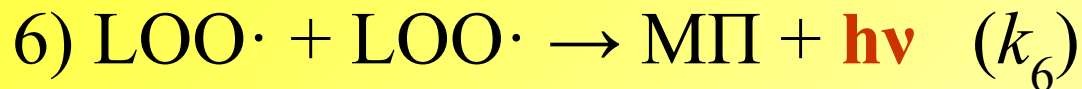


иницирование
цепи

продолжение
цепи

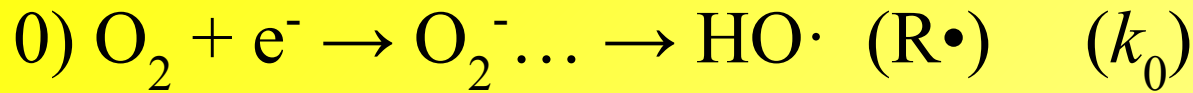


разветвление
цепи



обрыв
цепи

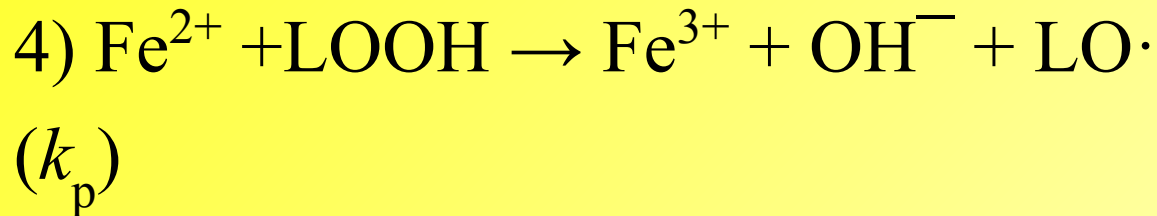
Уравнения реакций цепного окисления липидов



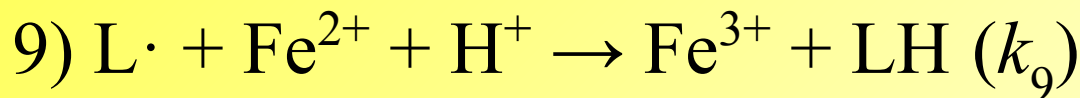
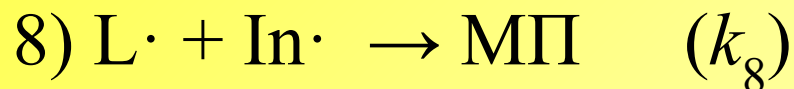
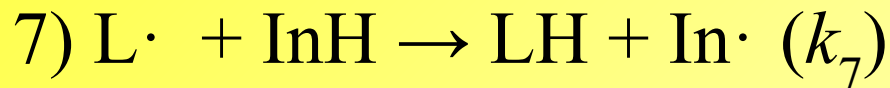
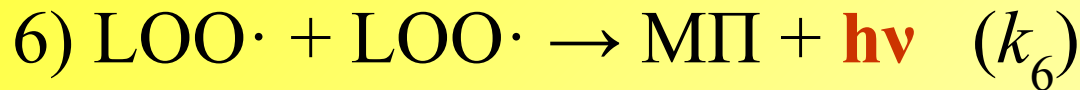
иницирование
цепи



продолжение
цепи



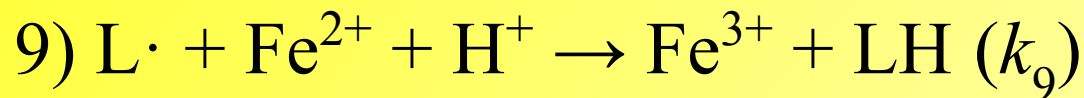
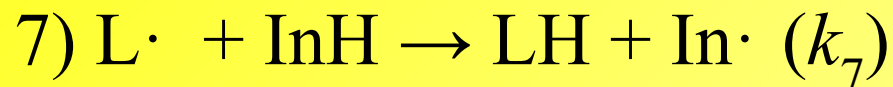
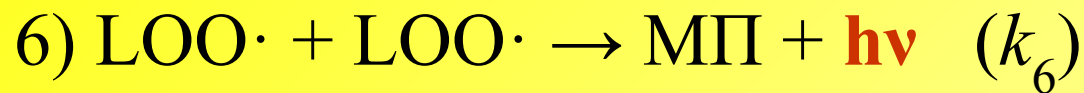
разветвление
цепи



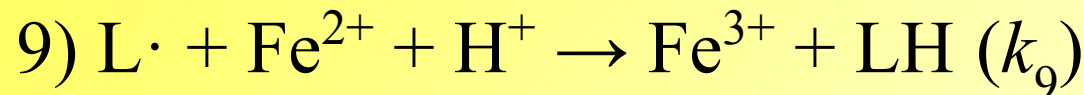
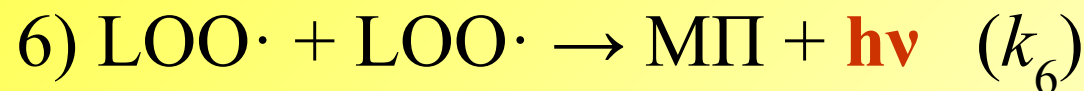
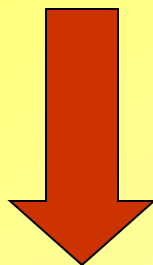
обрыв
цепи

Скорость нескольких **параллельных** реакций в наибольшей мере определяется скоростью самой **быстрой** из них.

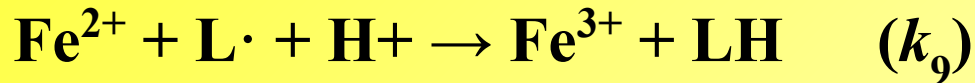
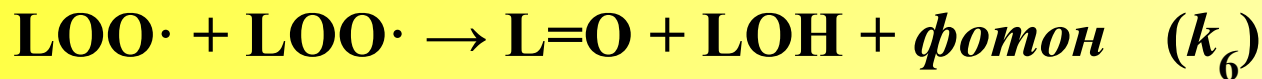
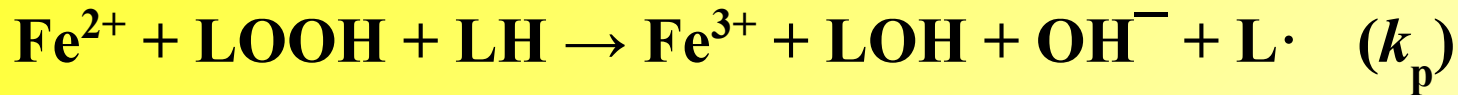
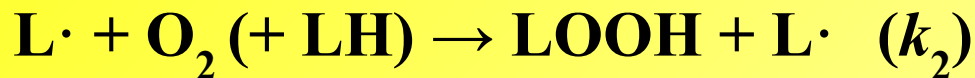
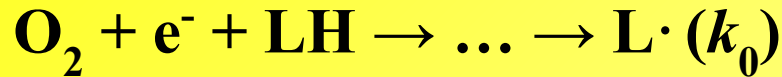
Пример 4: Вместо четырех реакций обрыва цепи оставим две, идущие в отсутствие ингибитора:



обрыв
цепи



Упрощенная схема реакций перекисного окисления липидов из 5 реакций



Скорость нескольких **параллельных** реакций в основном определяется самой **быстрой** из них

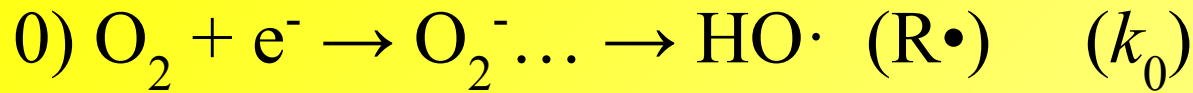
Пример 2: Скорость реакции обрыва цепей определяется двумя параллельно идущими реакциями:



При наличии Fe^{2+} скорость первой реакции гораздо выше, чем второй. Поэтому пока есть Fe^{2+} , основная реакция обрыва цепи – это реакция:



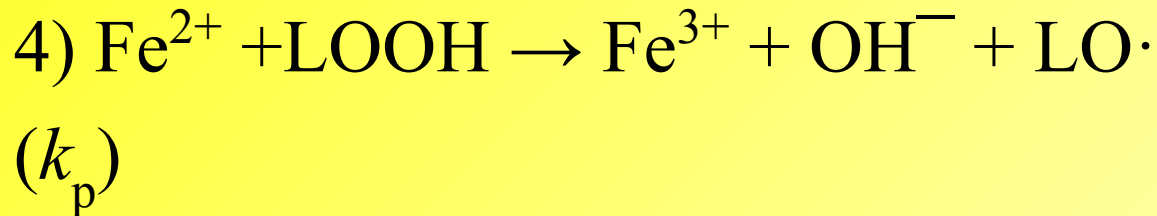
Уравнения реакций цепного окисления липидов



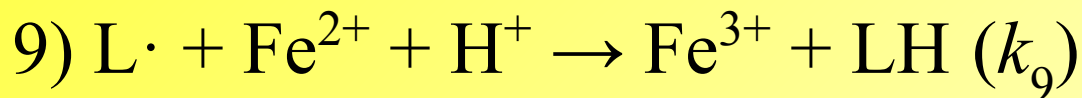
иницирование
цепи



продолжение
цепи



разветвление
цепи



обрыв
цепи

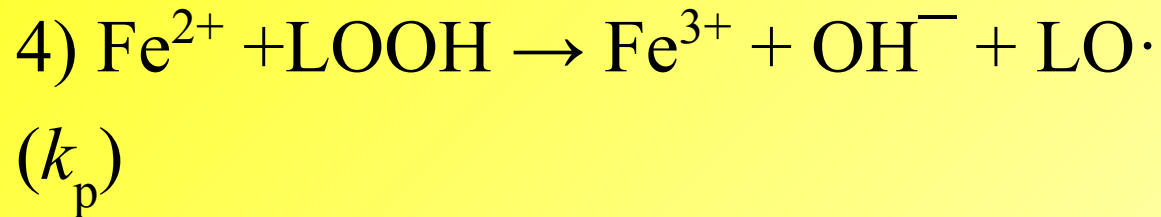
Уравнения реакций цепного окисления липидов



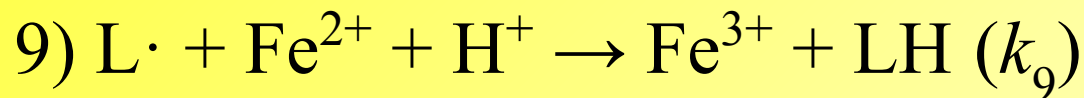
иницирование
цепи



продолжение
цепи



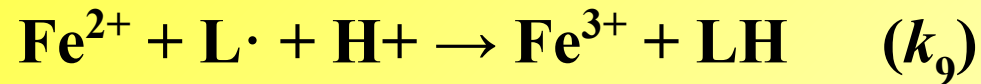
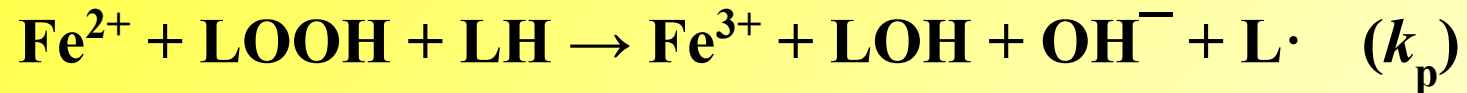
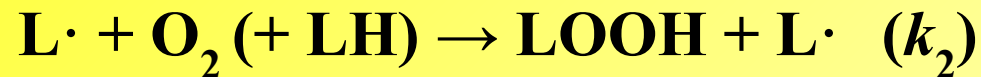
разветвление
цепи



обрыв
цепи

Упрощенная схема реакций перекисного окисления липидов из 3 реакций

Если считать, что образование радикалов идет, в основном, за счет реакции с ионами Fe^{2+} , то можно удалить и реакцию (0). Тогда получим:



Дифференциальные уравнения кинетики в системе трех реакций

$$\frac{d[\text{LOOH}]}{dt} = v_2 - v_p = k_2 [\text{O}_2][\text{L}\cdot] - k_p [\text{Fe}^{2+}][\text{LOOH}]$$

$$\frac{d[\text{L}\cdot]}{dt} = v_p - v_9 = k_p [\text{Fe}^{2+}][\text{LOOH}] - k_9 [\text{Fe}^{2+}][\text{L}\cdot]$$

$$\frac{d[\text{Fe}^{2+}]}{dt} = -v_p - v_9 = -k_p [\text{Fe}^{2+}][\text{LOOH}] - k_9 [\text{Fe}^{2+}][\text{L}\cdot]$$

Стационарное приближение Боденштейна – Семенова

$$\frac{d[L\cdot]}{dt} = 0$$

$$k_p [Fe^{2+}] [LOOH] = k_9 [Fe^{2+}] [L\cdot]$$

$$[L\cdot] = [LOOH] \frac{k_p}{k_9}$$

$$\frac{d[LOOH]}{dt} = k_2 [O_2] [L\cdot] - k_p [Fe^{2+}] [LOOH]$$

$$\frac{d[LOOH]}{dt} = \left([O_2] \frac{k_2}{k_9} - [Fe^{2+}] \right) k_p [LOOH]$$

$$\frac{d[LOOH]}{dt} = \gamma [LOOH]$$

$$\gamma = k_p \left([O_2] \frac{k_2}{k_9} - [Fe^{2+}] \right)$$

Триггерная функция Fe^{2+}

$$\textcircled{1} \frac{d[\text{LOOH}]}{dt} = \gamma [\text{LOOH}] \quad \textcircled{2} \frac{d[\text{LOOH}]}{[\text{LOOH}]} = \gamma dt$$

$$\textcircled{3} \int_{[\text{LOOH}]_0}^{[\text{LOOH}]} \frac{d[\text{LOOH}]}{[\text{LOOH}]} = \gamma \int_0^t dt \quad \textcircled{4} \ln \frac{[\text{LOOH}]}{[\text{LOOH}]_0} = \gamma t$$

$$\textcircled{5} \frac{[\text{LOOH}]}{[\text{LOOH}]_0} = e^{\gamma t}$$

$$\textcircled{6} \frac{[\text{LOOH}]}{[\text{LOOH}]_0} = \frac{[\text{L}\cdot]}{[\text{L}\cdot]_0} = \frac{v_{\text{пол}}}{v_{\text{пол-0}}} = e^{\gamma t}$$

Триггерная функция Fe^{2+}

$$① \frac{[LOOH]}{[LOOH]_0} = \frac{[L \cdot]}{[L \cdot]_0} = \frac{v_{пол}}{v_{пол-0}} = e^{\gamma t}$$

$$② \gamma = k_p \left([O_2] \frac{k_2}{k_9} - [Fe^{2+}] \right)$$

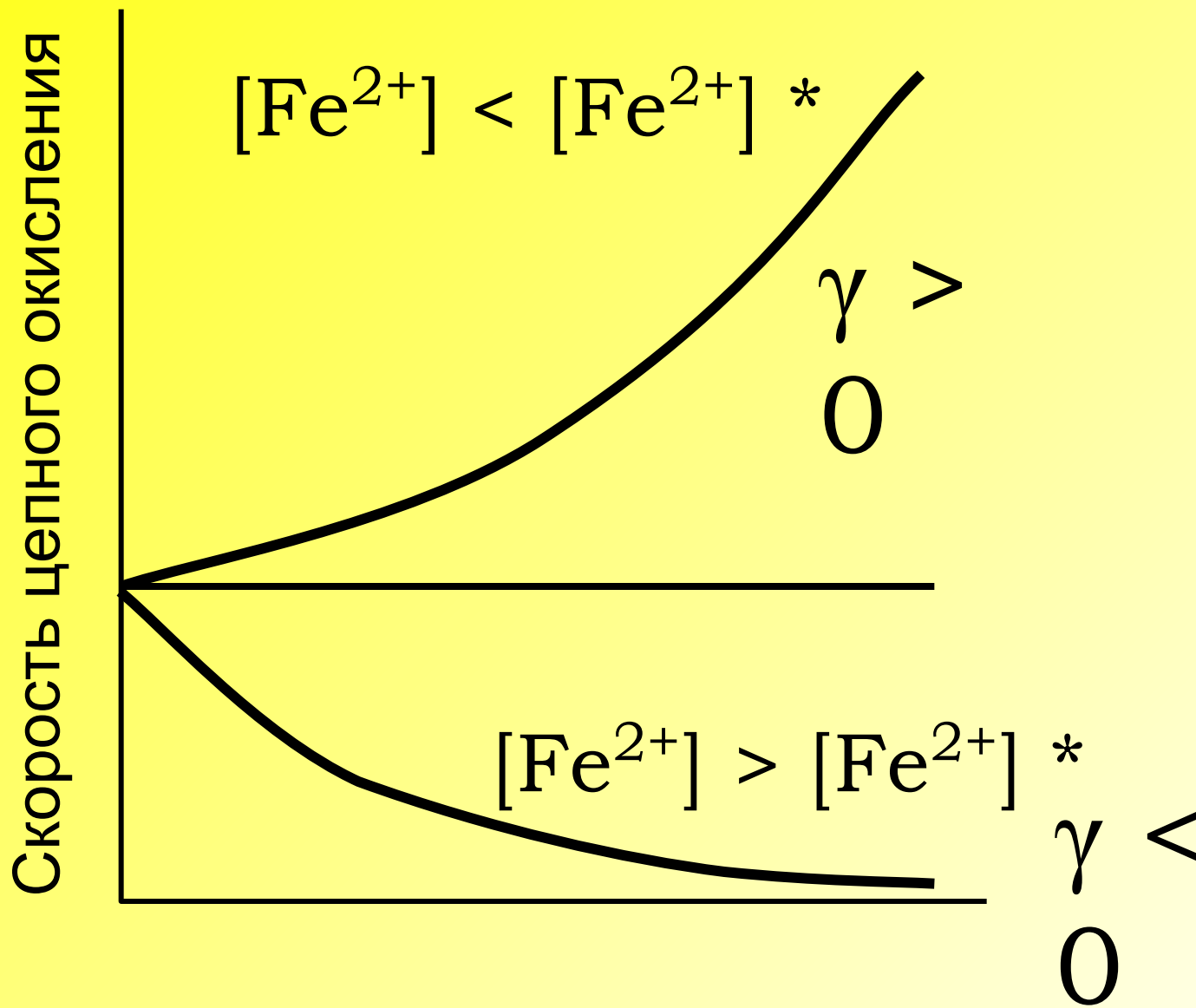
$$③ \text{ При } \gamma = 0 \quad [Fe^{2+}] = [O_2] \frac{k_2}{k_9} = [Fe^{2+}]_{крит}$$

$$④ \gamma = k_p ([Fe^{2+}]^* - [Fe^{2+}])$$

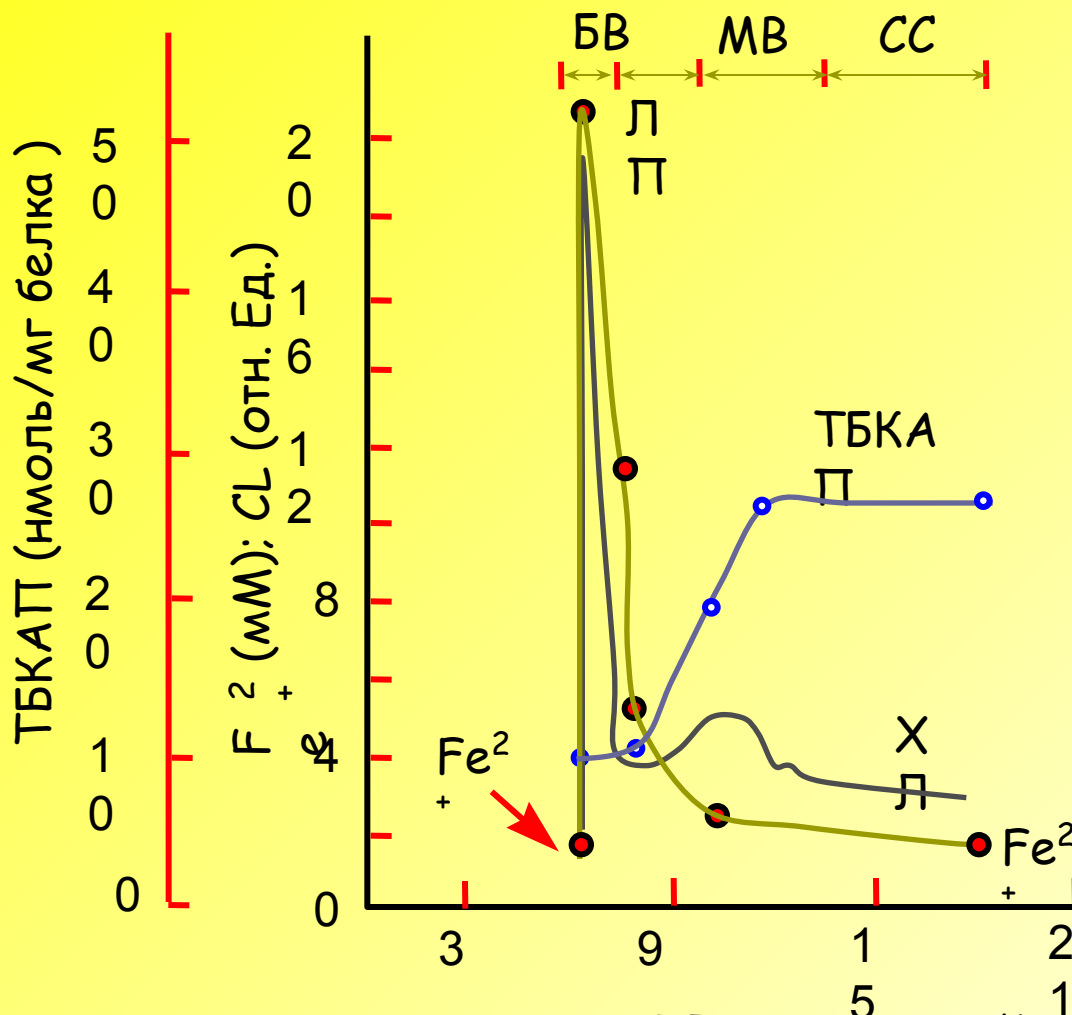
$$⑤ \text{ При } [Fe^{2+}] > [Fe^{2+}]^*, \gamma < 0$$

$$⑥ \text{ При } [Fe^{2+}] < [Fe^{2+}]^*, \gamma > 0$$

Железо как *про*- и *анти*оксидант



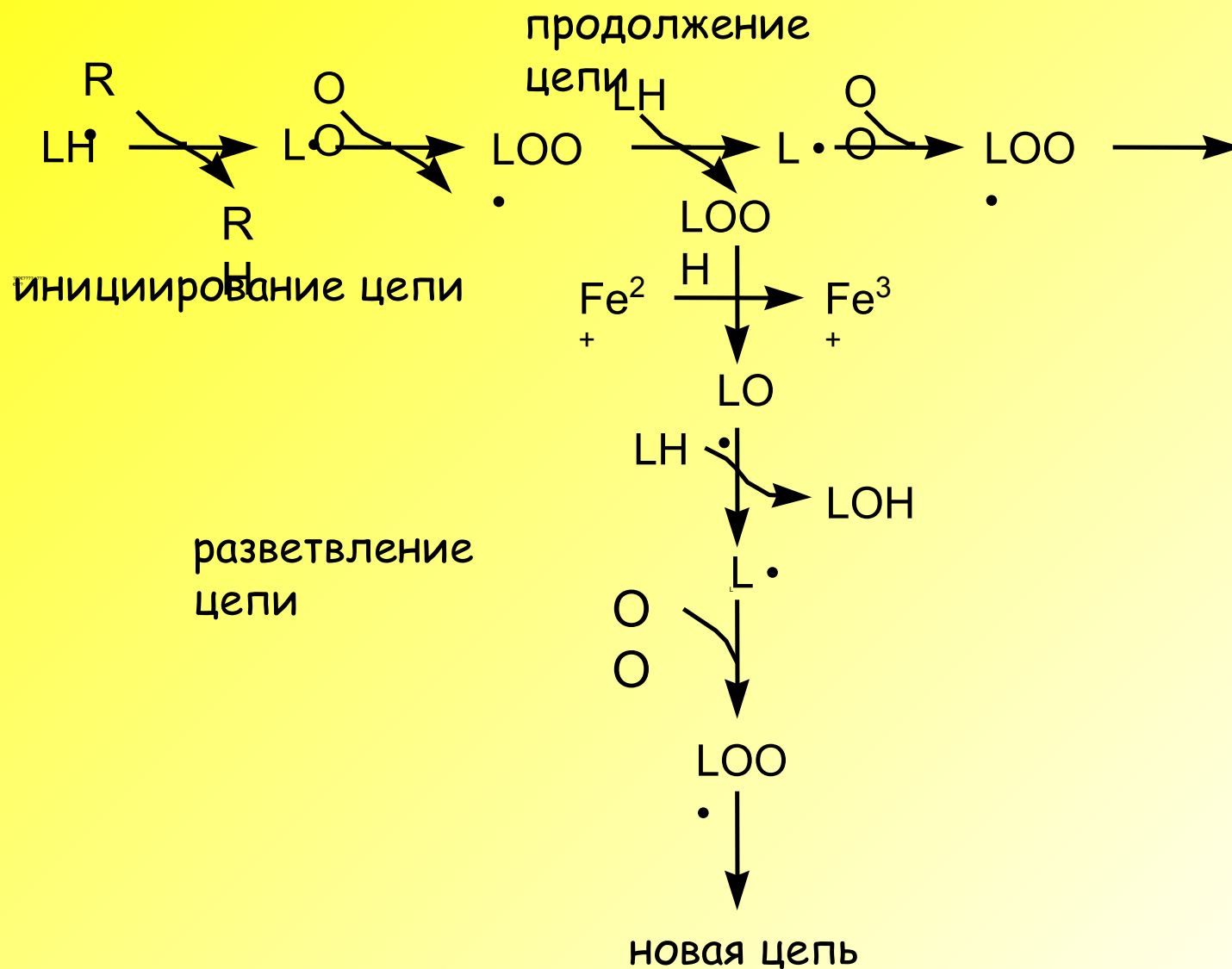
Кинетика перекисного окисления липидов



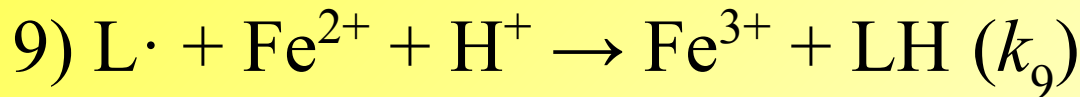
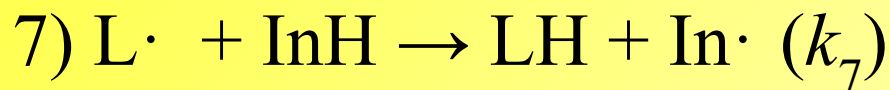
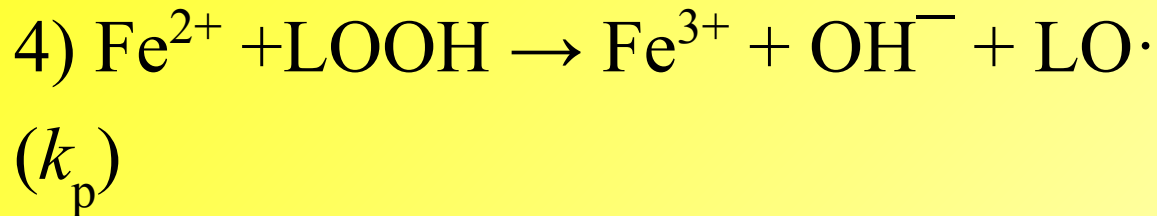
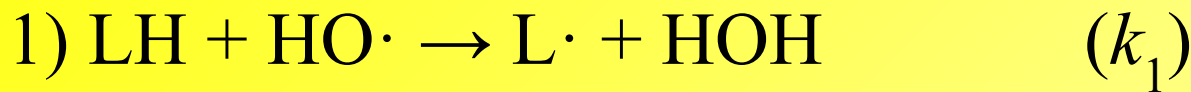
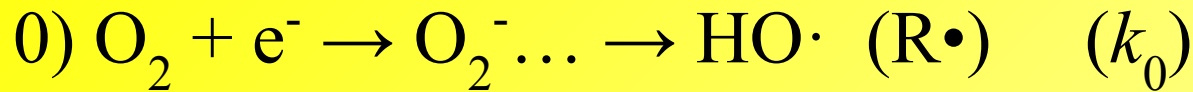
БВ - быстрая вспышка; ЛП - латентный период;
 МВ - медленная вспышка; СС - стационарное свечение

Хемилюминесценция при перекисном окислении липидов

Общая схема реакций перекисного окисления ЛИПИДОВ



Уравнения реакций цепного окисления липидов



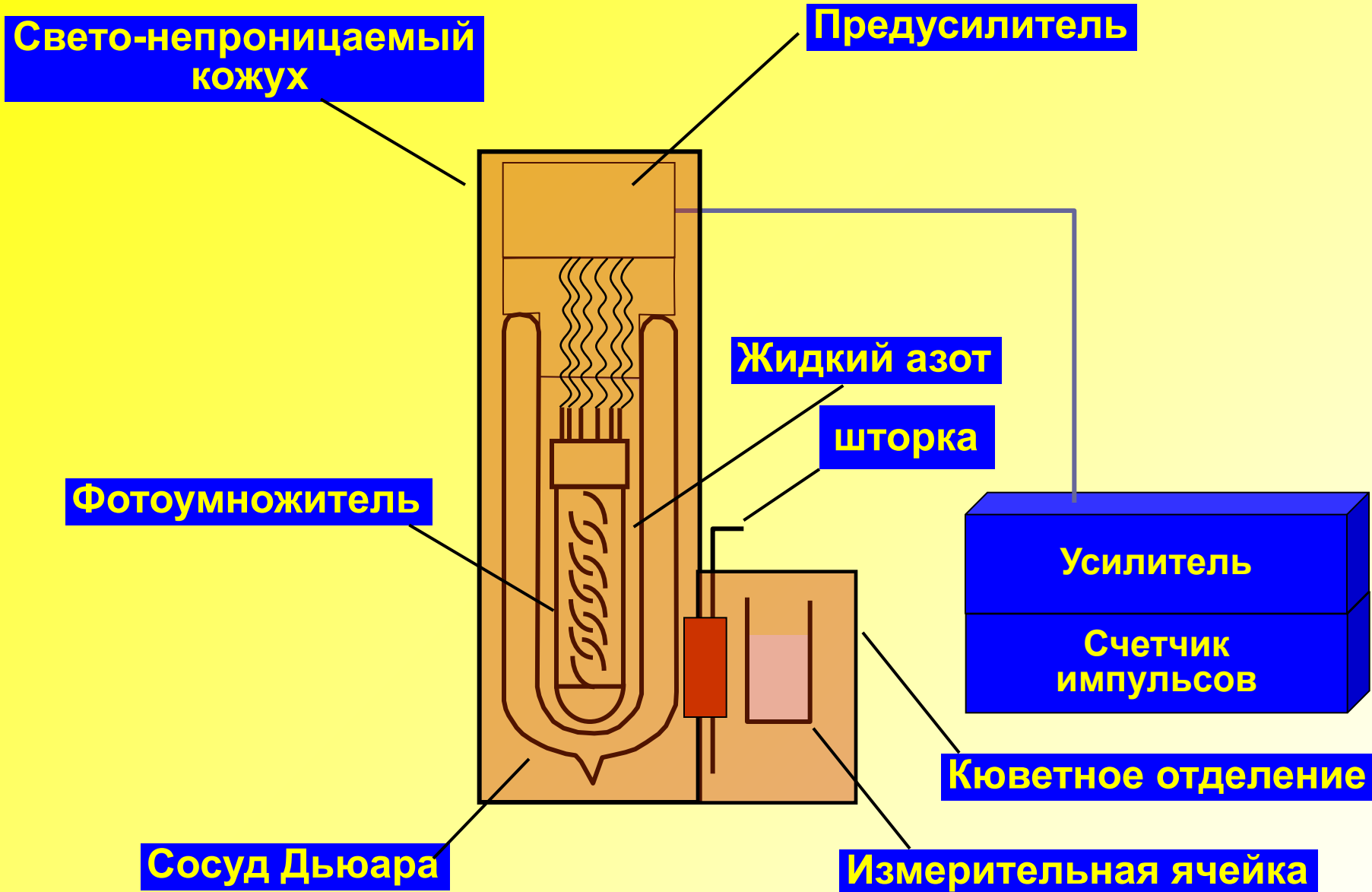
иницирование
цепи

продолжение
цепи

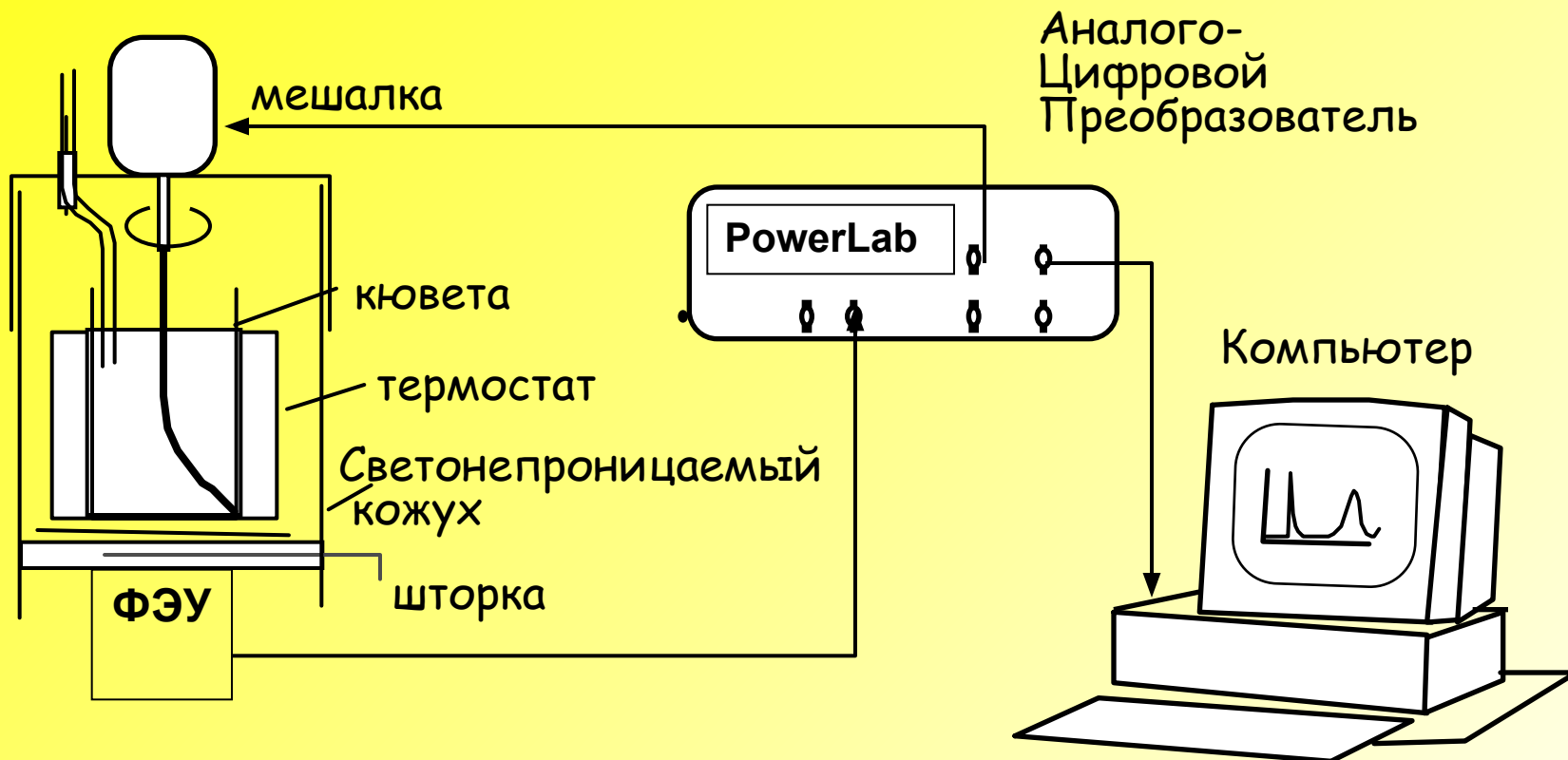
разветвление
цепи

обрыв
цепи

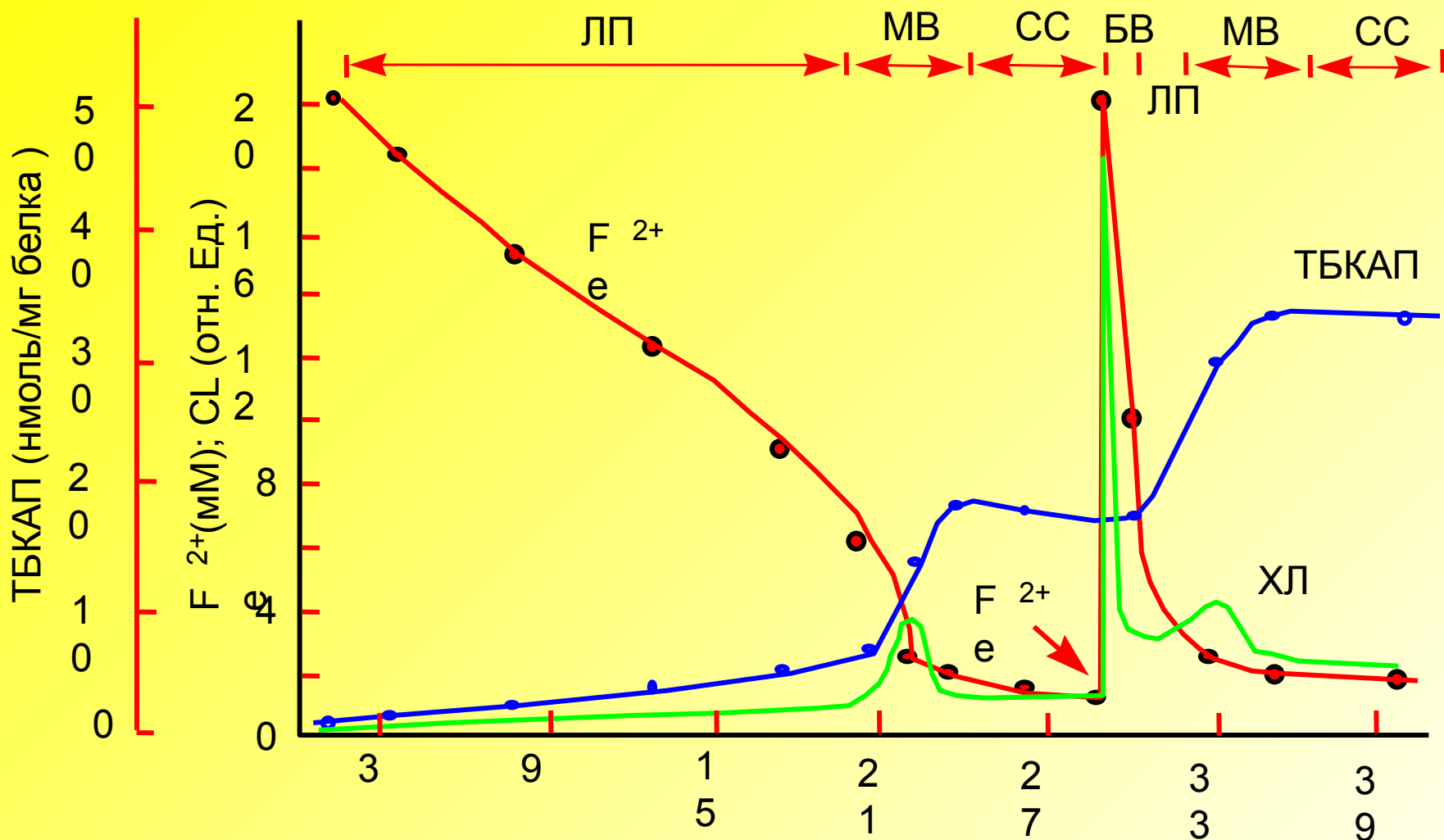
Схема хемилюминометра



Современная установка для измерения ХЛ

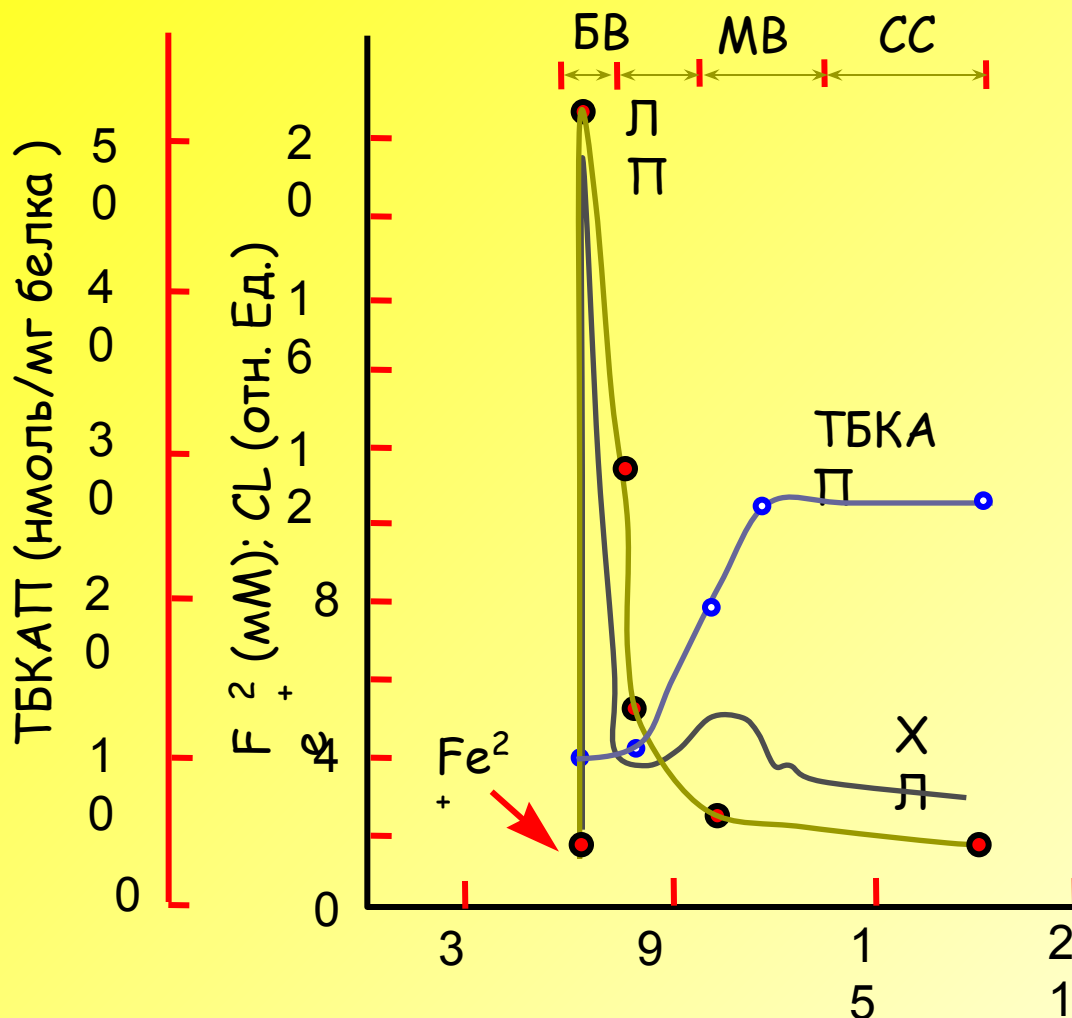


Кинетика перекисного окисления липидов



Владимиров, А., Т.Б. Сулова, and В.И. Оленев, *Хемилюминесценция, сопряженная с образованием липидных перекисей в биологических мембранах. II. Роль Fe(2+) в развитии цепного окисления липидов и сверхслабого свечения*. *Биофизика*, 1969. 14: р. 836-845

Кинетика перекисного окисления липидов



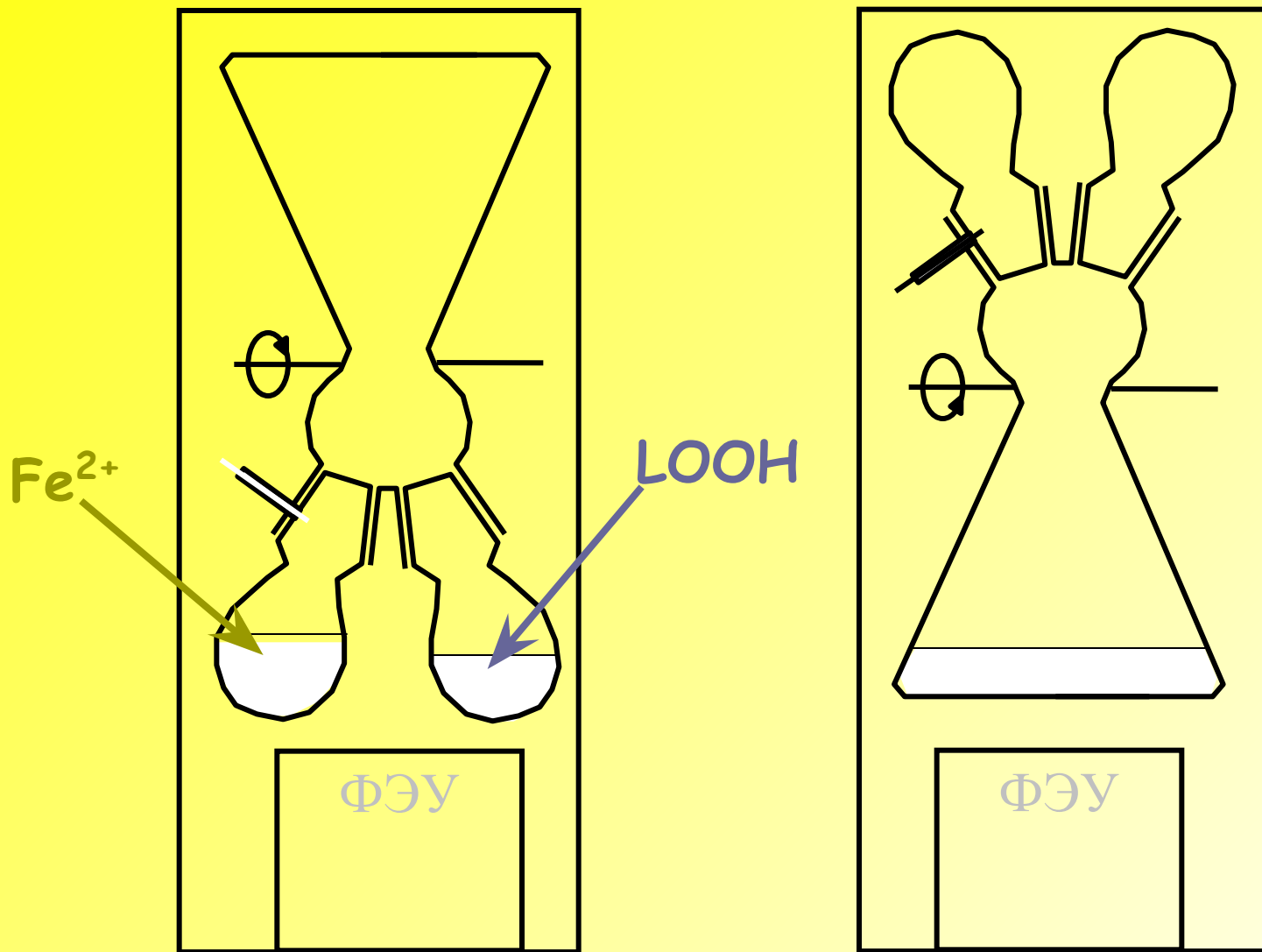
БВ - быстрая вспышка;

ЛП - латентный период;

МВ - медленная вспышка;

СС - стационарное свечение

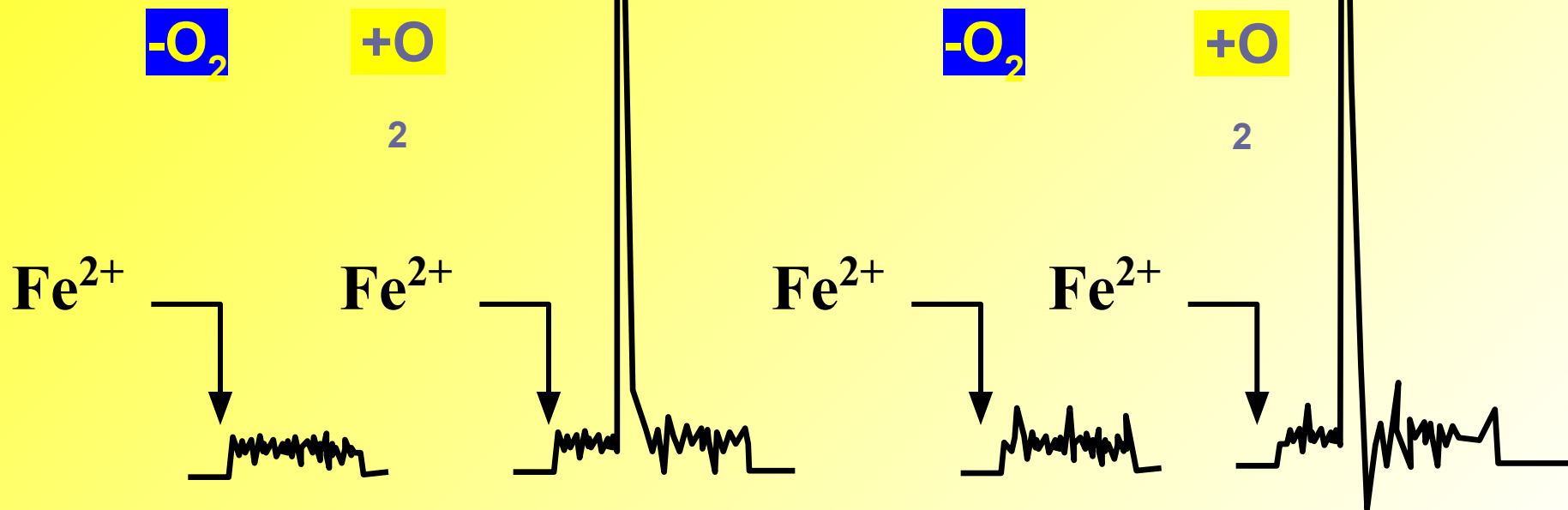
Эксперимент для изучения роли кислорода в ПОЛ



Хемилюминесценция при ПОЛ, индуцированном ионами Fe^{2+}

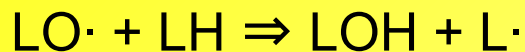
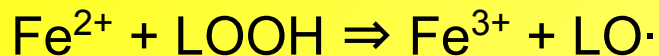
Олеиновая кислота

Митохондрии

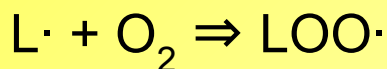
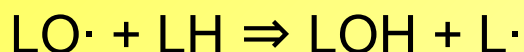
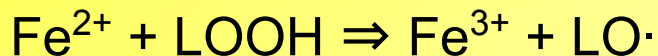


Реакции ПОЛ, протекающие в присутствии и в отсутствие O_2

Без кислорода:



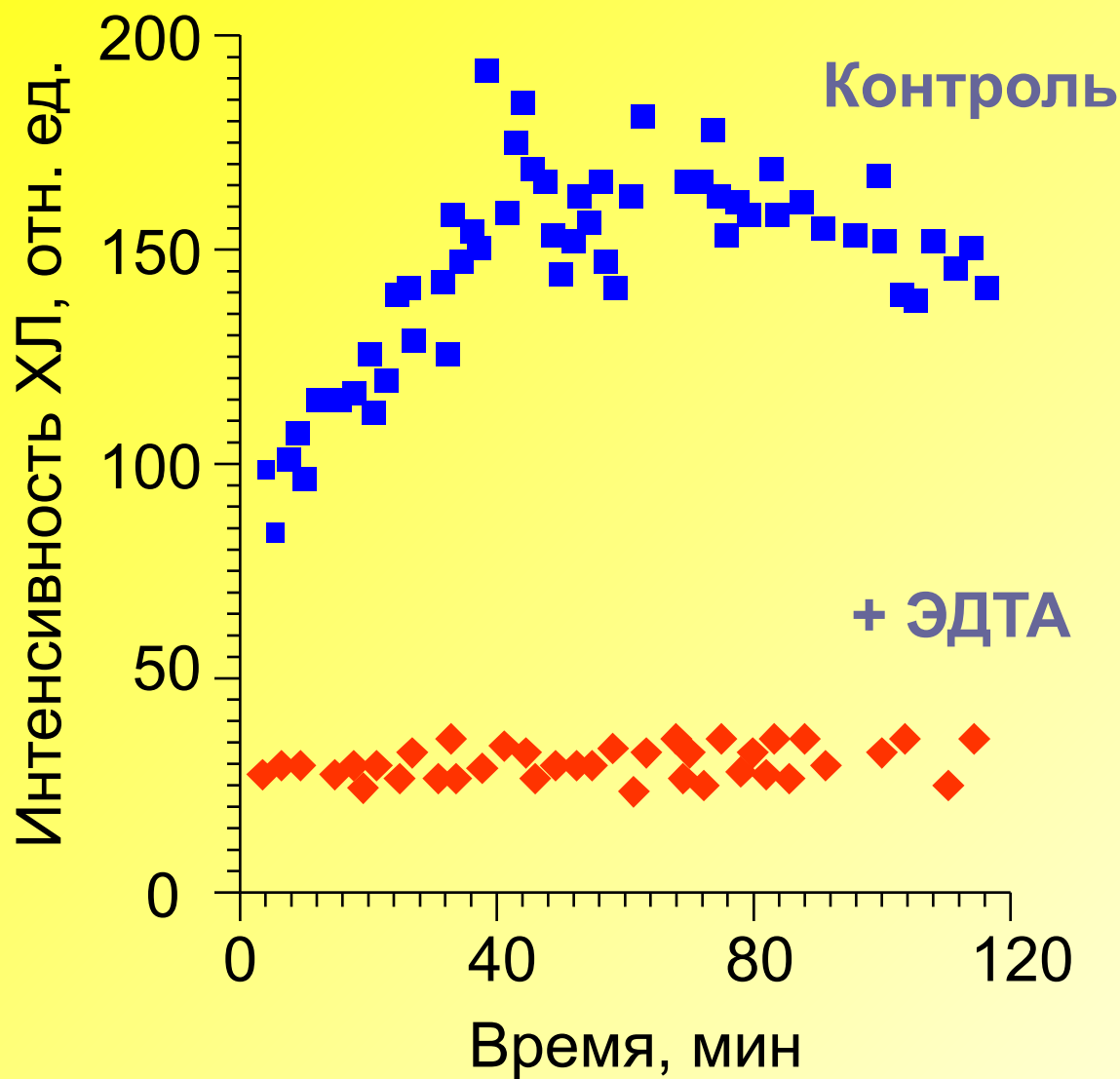
В присутствии кислорода:



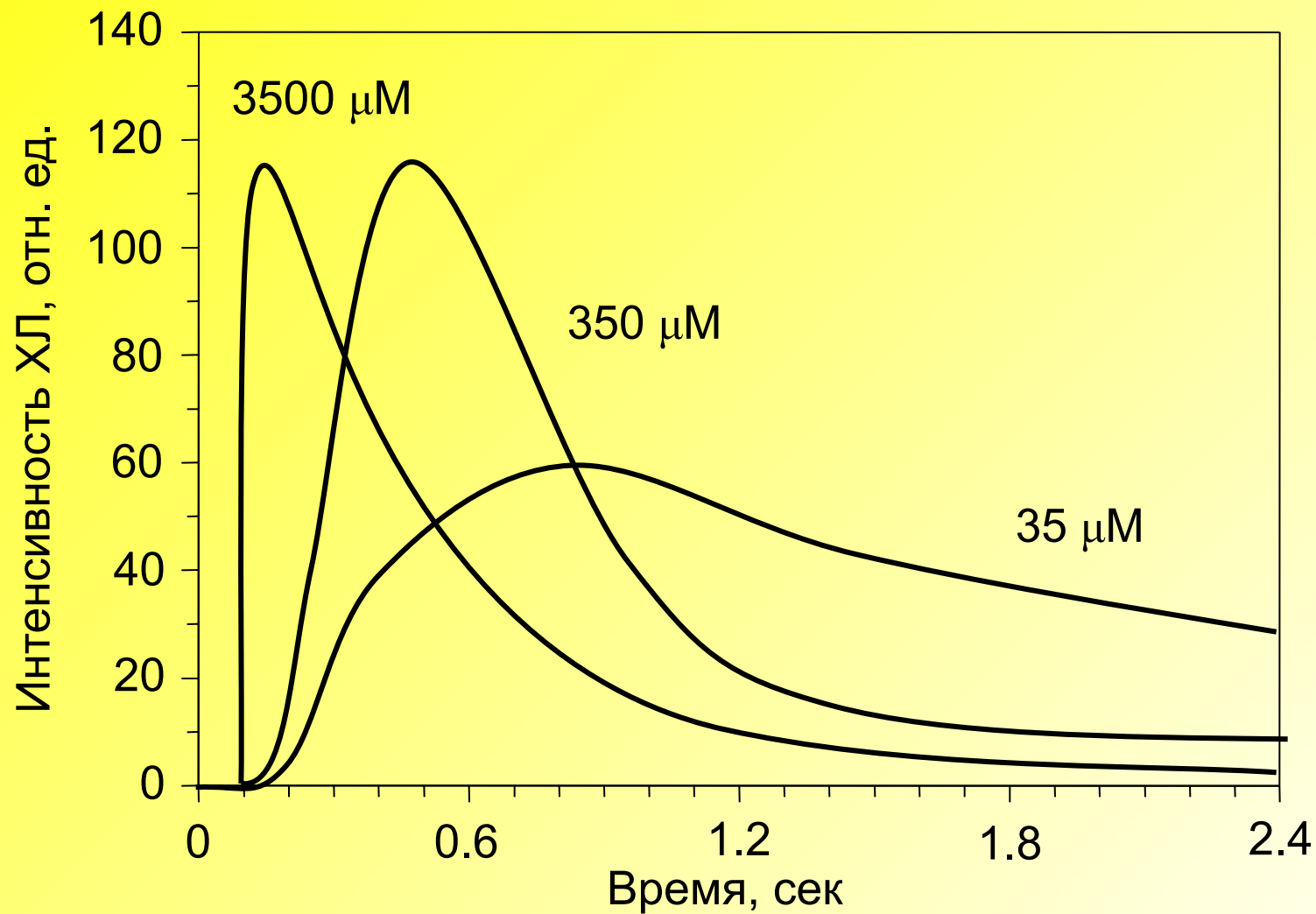
$$I = \eta k_6 [LOO\cdot]^2$$

$$\eta = 10^{-9} \div 10^{-15}$$

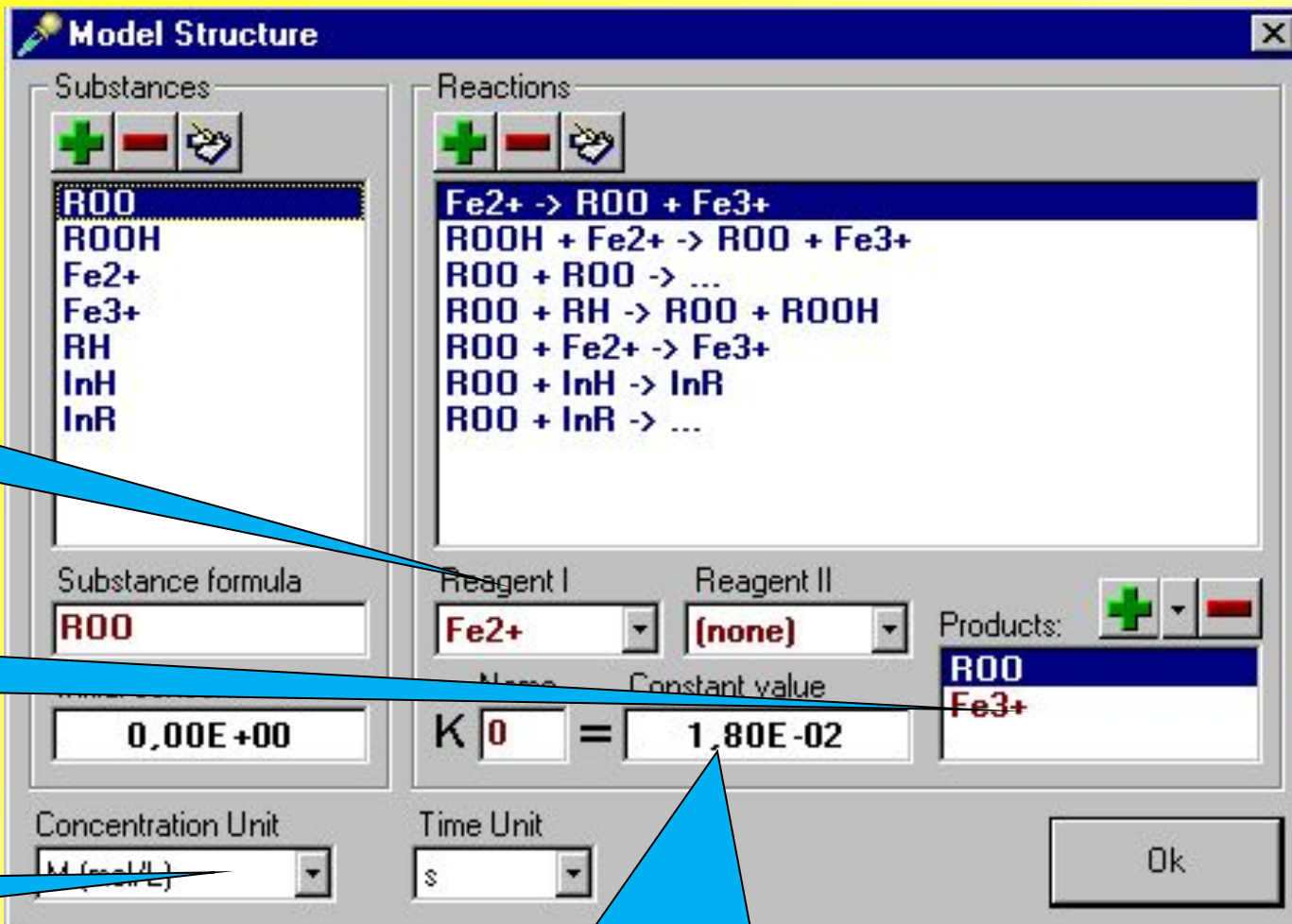
Роль ионов Fe в инициировании ПОЛ



Кинетика ХЛ (быстрая вспышка) при различных $[\text{Fe}^{2+}]$



Программа для моделирования кинетики *KineticAnalyzer*



Добавление реагентов

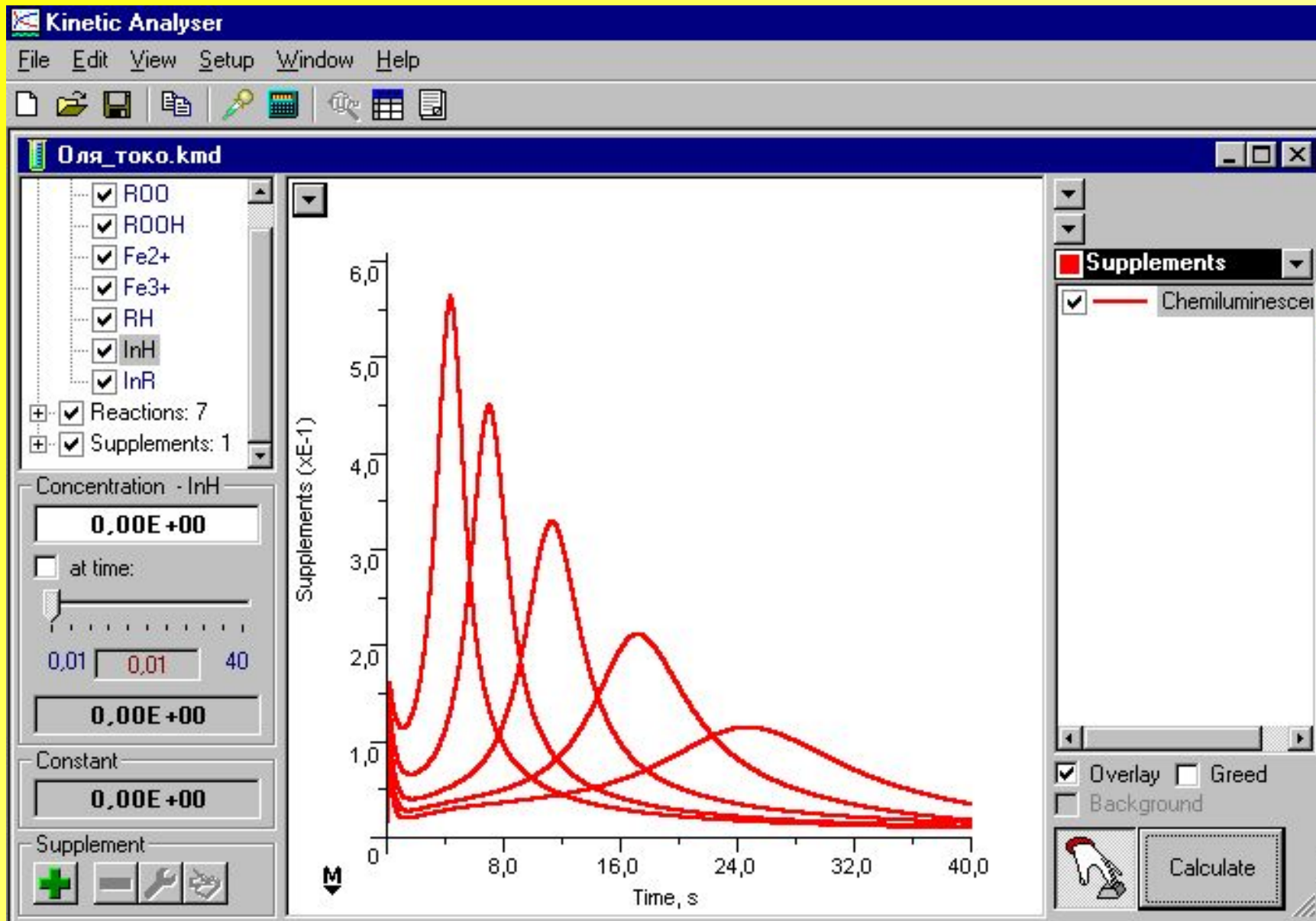
Добавление продуктов

Концентрации

Указание констант скорости

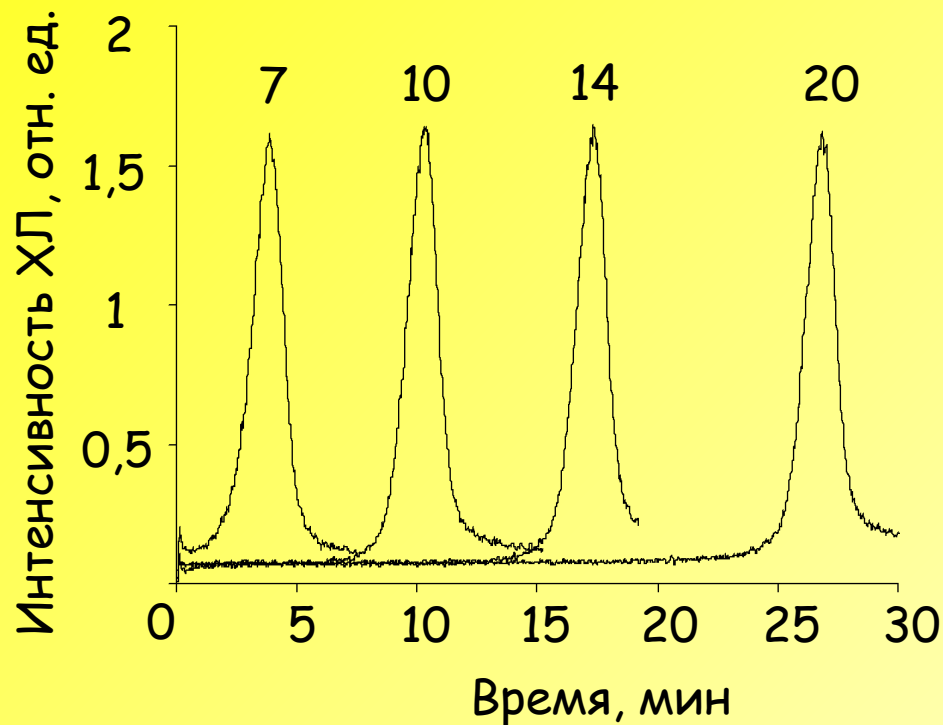
Авторы Д.Ю. Измайлов и Ю.А. Владимиров

Моделирование кинетики ХЛ

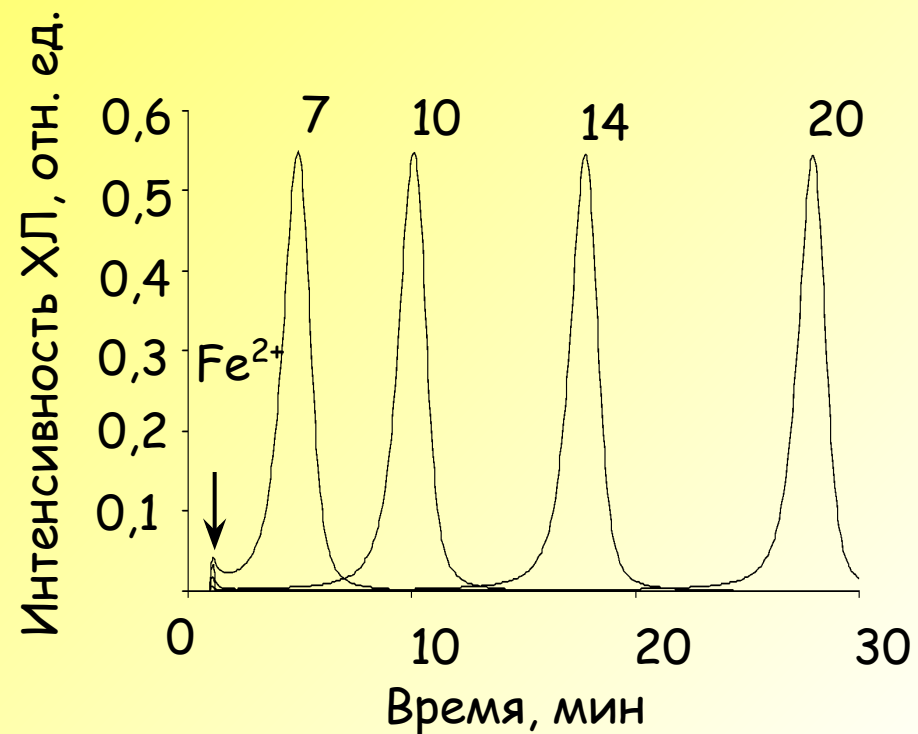


Сравнение кинетики ХЛ (медленная вспышка) и ее модели при разных $[Fe^{2+}]$

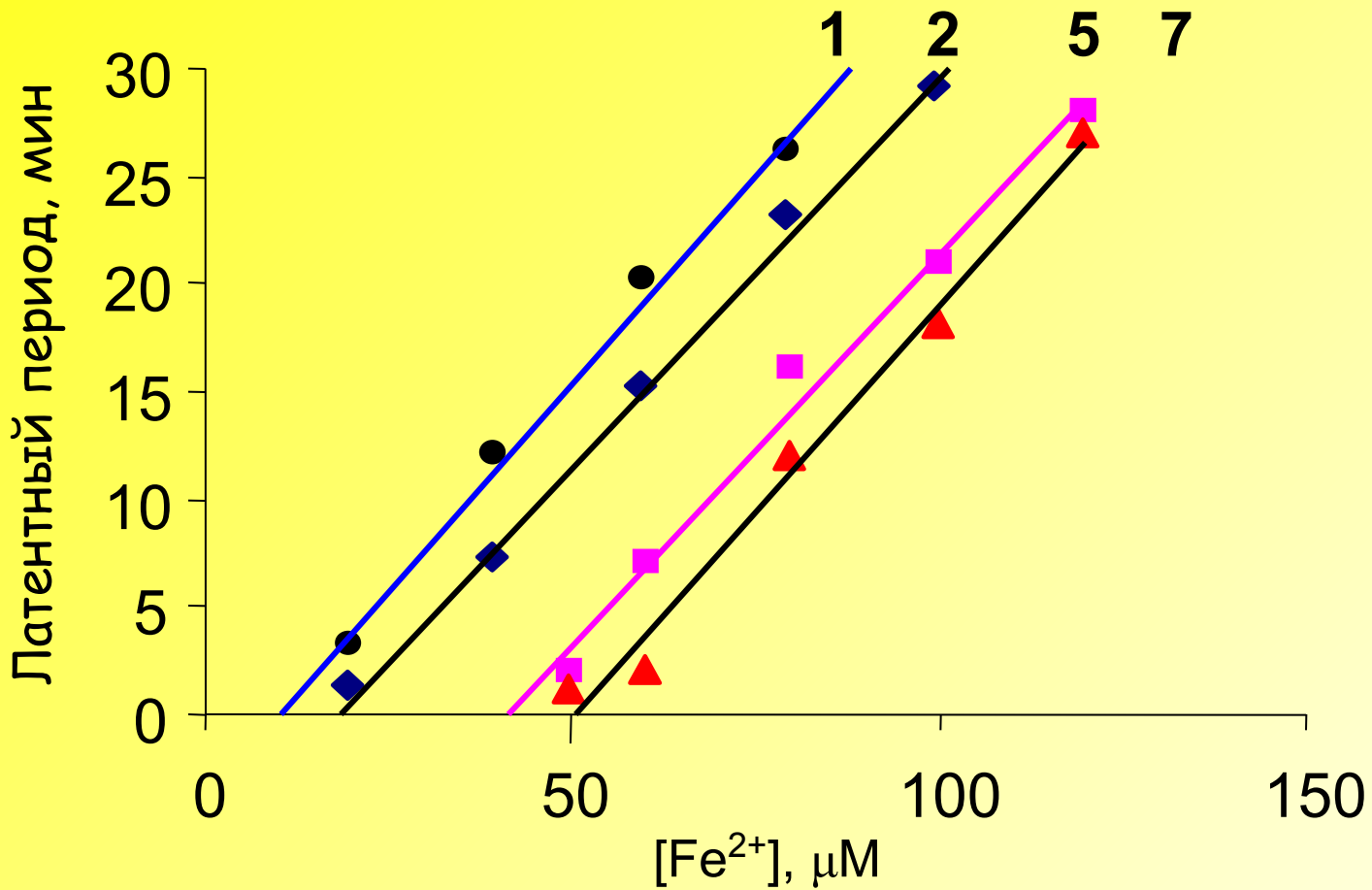
Измеренные кривые



Рассчитанные кривые

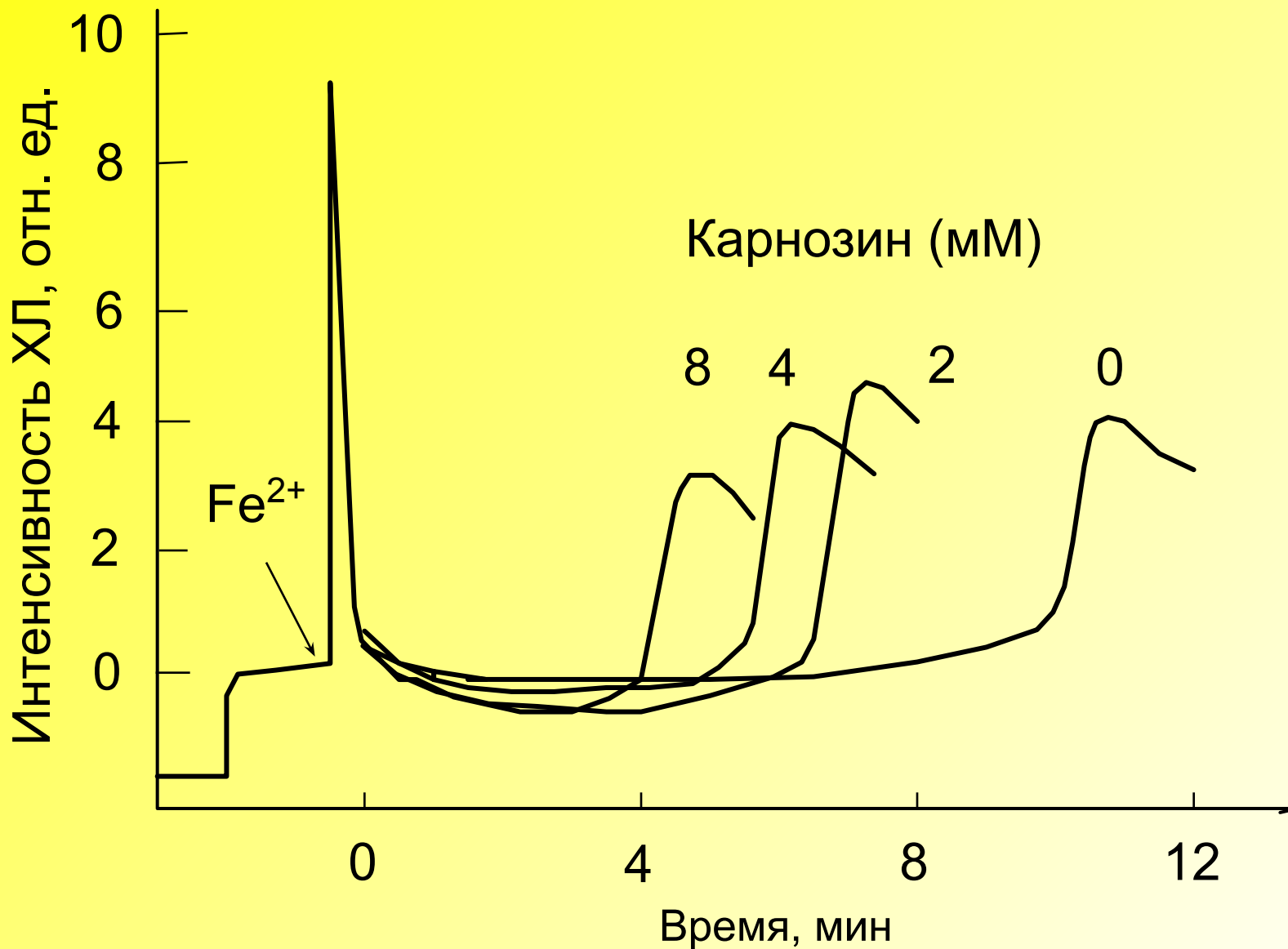


Измерение длительности латентного периода при различных концентрациях липосом



Цифры у кривых соответствуют концентрации липида в мг/мл

Влияние карнозина на Fe^{2+} -индуцированную ХЛ в липосомах



Вопросы к зачету:

1. Кинетика реакций цепного окисления липидов
2. Кривые кинетики цепного окисления липидов в митохондриях и липосомах
3. Уравнения реакций цепного окисления липидов
4. Скорости парциальных реакций цепного окисления
5. Упрощение схемы химических реакций. Скорость системы параллельных реакций.
6. Упрощение схемы химических реакций. Скорость системы последовательных реакций.
7. Упрощение схемы химических реакций. Как из системы из 9 реакций мы приходим к системе из 5 реакций?
8. Алгоритм расчета кривых кинетики реакции на ЭВМ.
9. Аналитическое решение уравнений кинетики ПОЛ. Дальнейшее упрощение системы реакций (от 5 до 3).
10. Дифференциальные уравнения кинетики в системе трех реакций. Стационарное приближение Боденштейна – Семенова.
11. Зависимость скорости реакции пероксидации от концентрации ионов железа. Понятие "критической концентрации" железа.
12. Триггерная функция Fe^{2+} . Железо как про- и антиоксидант.