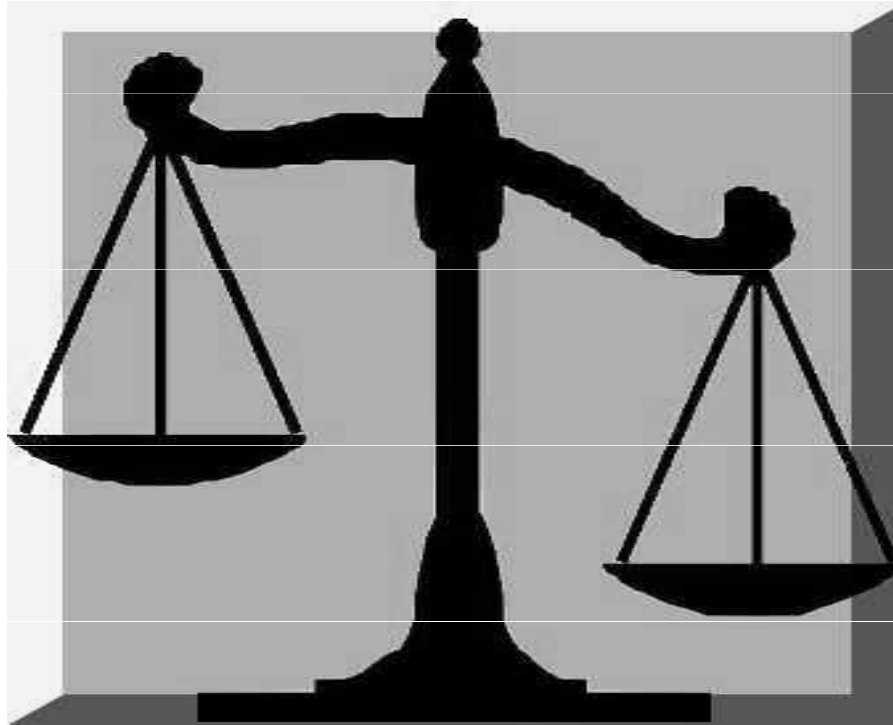


# Oxidativní stres



- redoxní rovnováha
- poškození biologických makromolekul

# Chemiluminescence

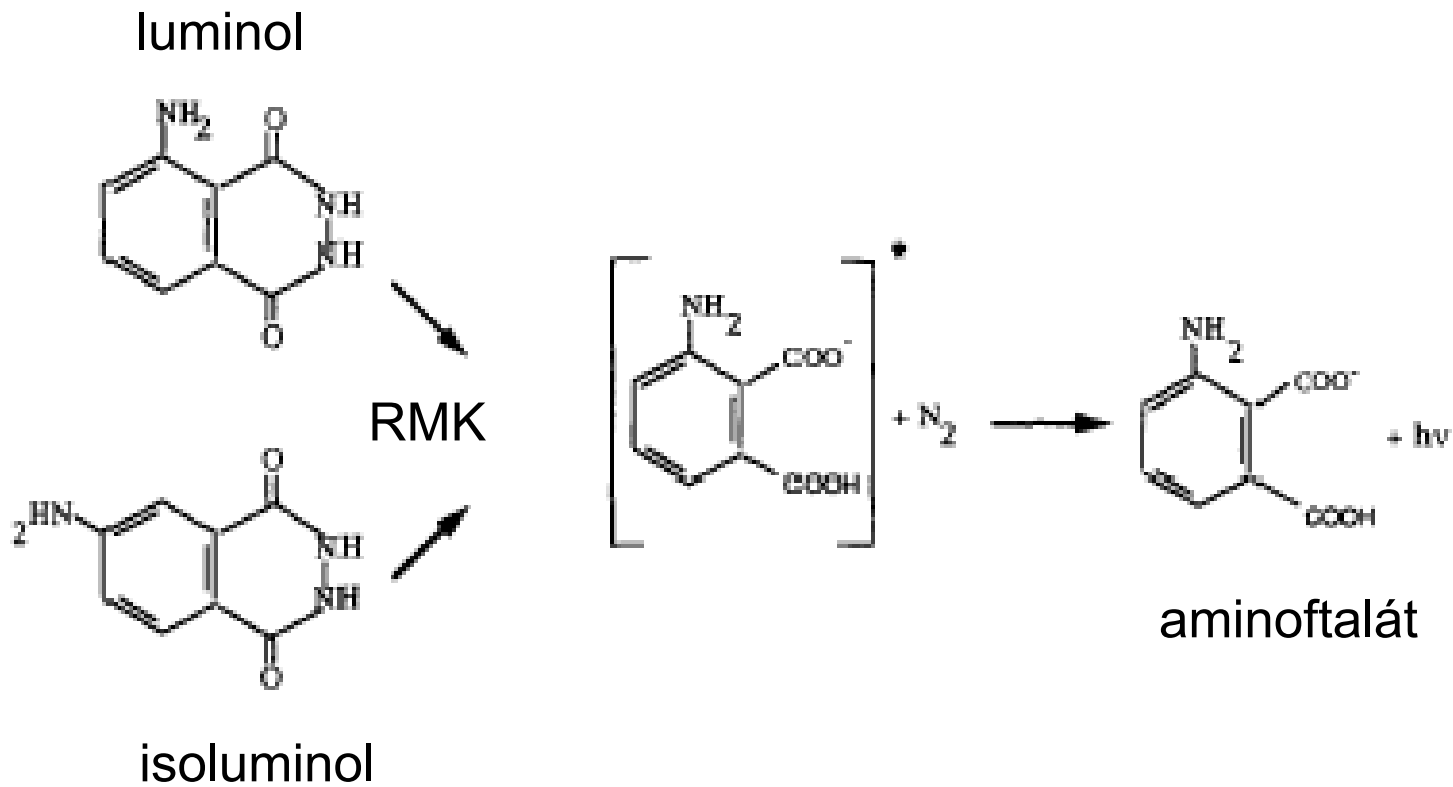
## Chemiluminescence (1)

Luminofoxy jsou oxidovány RMKD. Při návratu do základního energetického stavu emitují fotony. Jejich detekce je možná pomocí luminometrů nebo scintilačních spektrofotometrů.

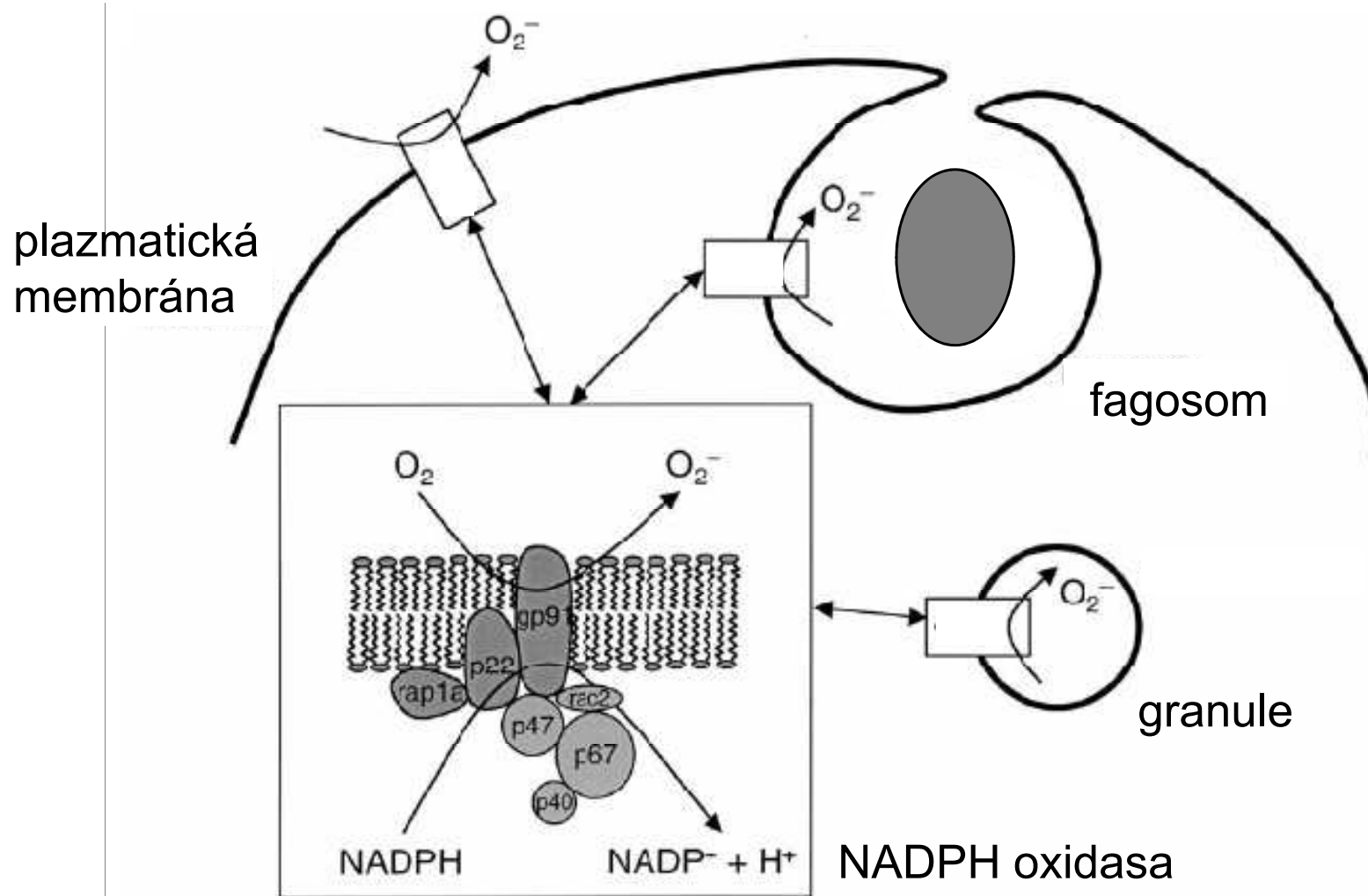
### Nejčastěji používané luminofoxy:

- Luminol
- Lucigenin
- Izoluminol
- Pholasin

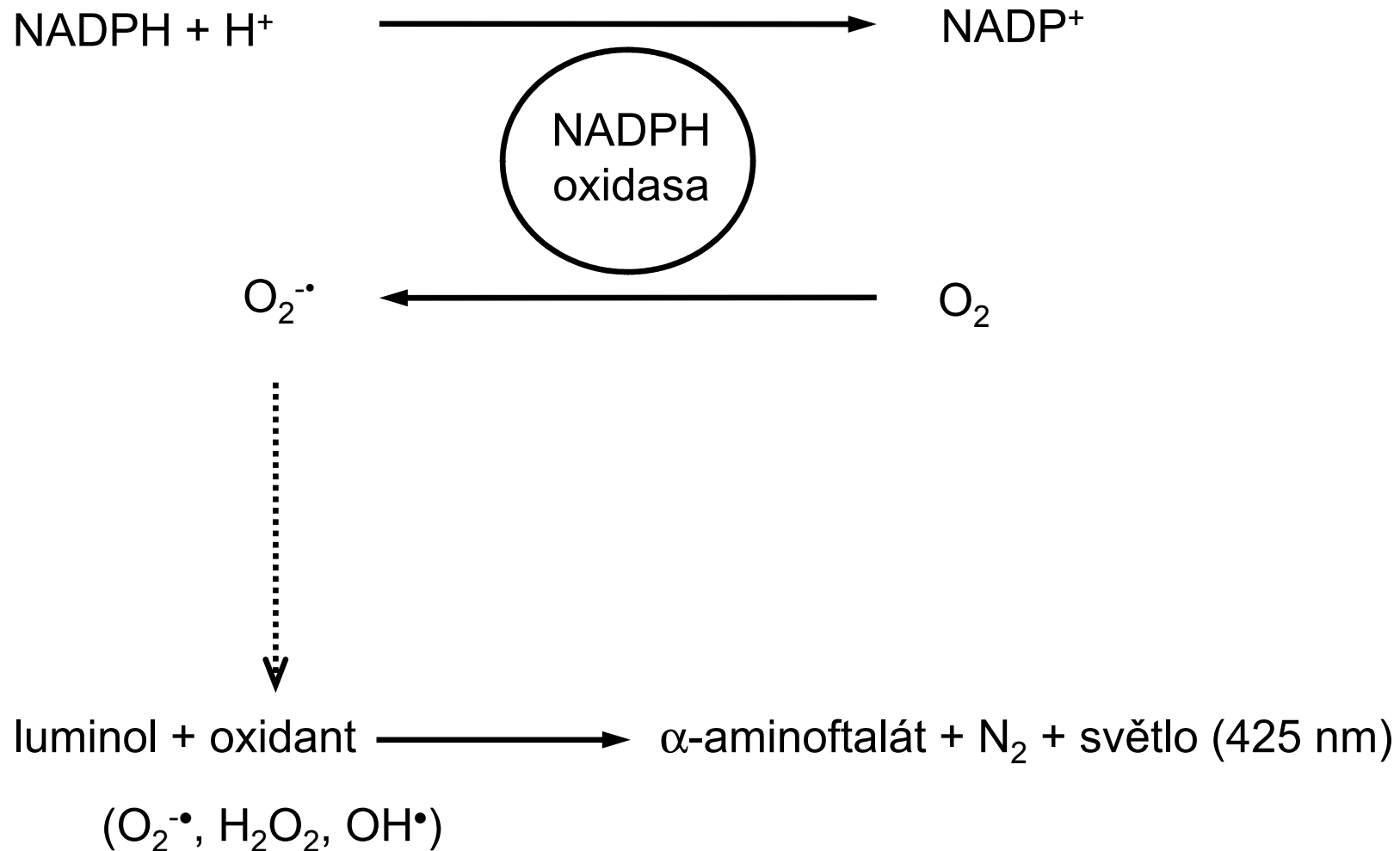
# Chemiluminescence



# CL fagocytů



# CL fagocytů

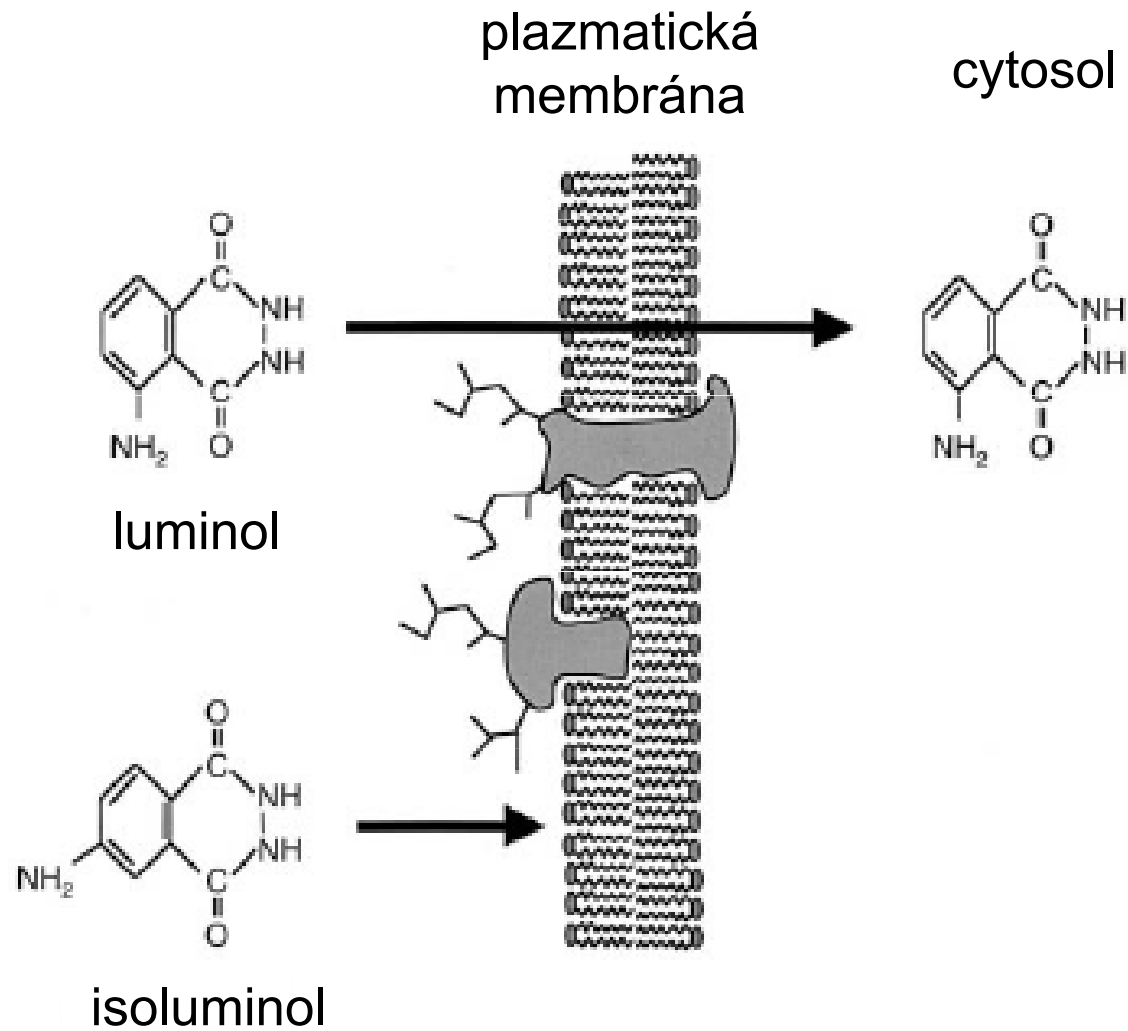


# CL fagocytů

## Rozlišení intra- a extracelulární CL

- SOD, kataláza, křenová peroxidáza, azid sodný
- luminol vs. isoluminol
- Streptococcus mutans

# CL fagocytů



# CL fagocytů

## Aktivátory fagocytů

opsonizované částice (OZP)  
fMLP  
PMA  
vápníkový ionofor A23187

## Místo působení

povrchové receptory  
povrchové receptory  
proteinkinasa C  
Ca<sup>2+</sup> → PKC



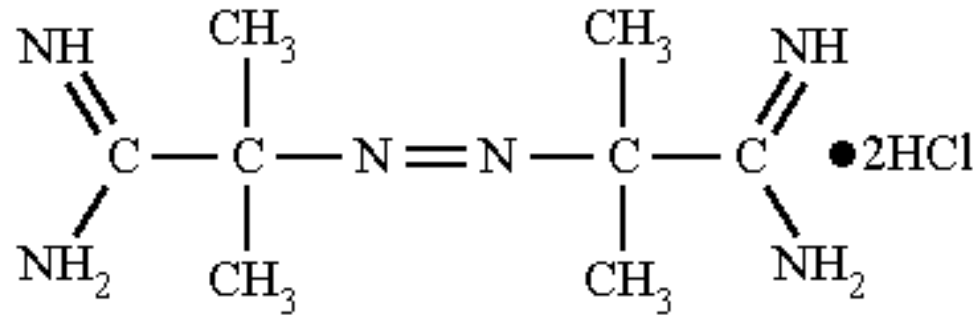
# Systemy generující RMKD

- xanthin/xanthin oxidáza  $O_2^{\cdot-}$
- peroxid vodíku + ionty přech. kovů  $\cdot OH$
- peroxid vodíku  $H_2O_2$
- ABAP  $ROO\cdot$
- SIN-1  $ONOO^-$
- buněčné systémy (fagocyty)

# Metoda TRAP

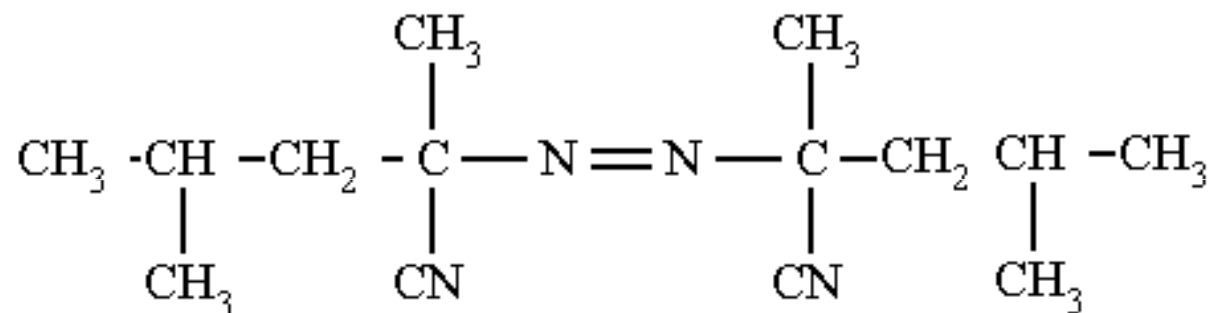
- **T**otal (peroxyl) **R**adical-trapping **A**ntioxidative **P**arameter
- stanovení celkové antioxidační kapacity ve vodě rozpustných antioxidantů
- referenční vzorek: trolox

# Metoda TRAP



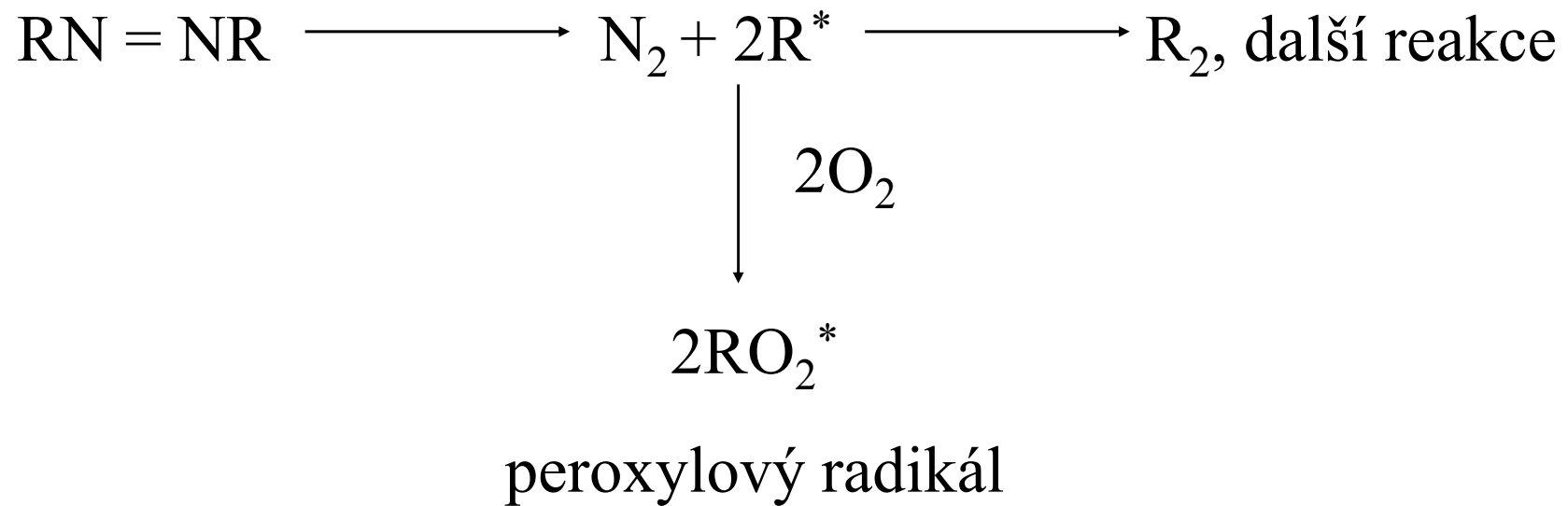
- 2,2'-azobis(2-amidinopropane) dihydrochloride
- 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride

# Metoda TRAP v lipidové fázi

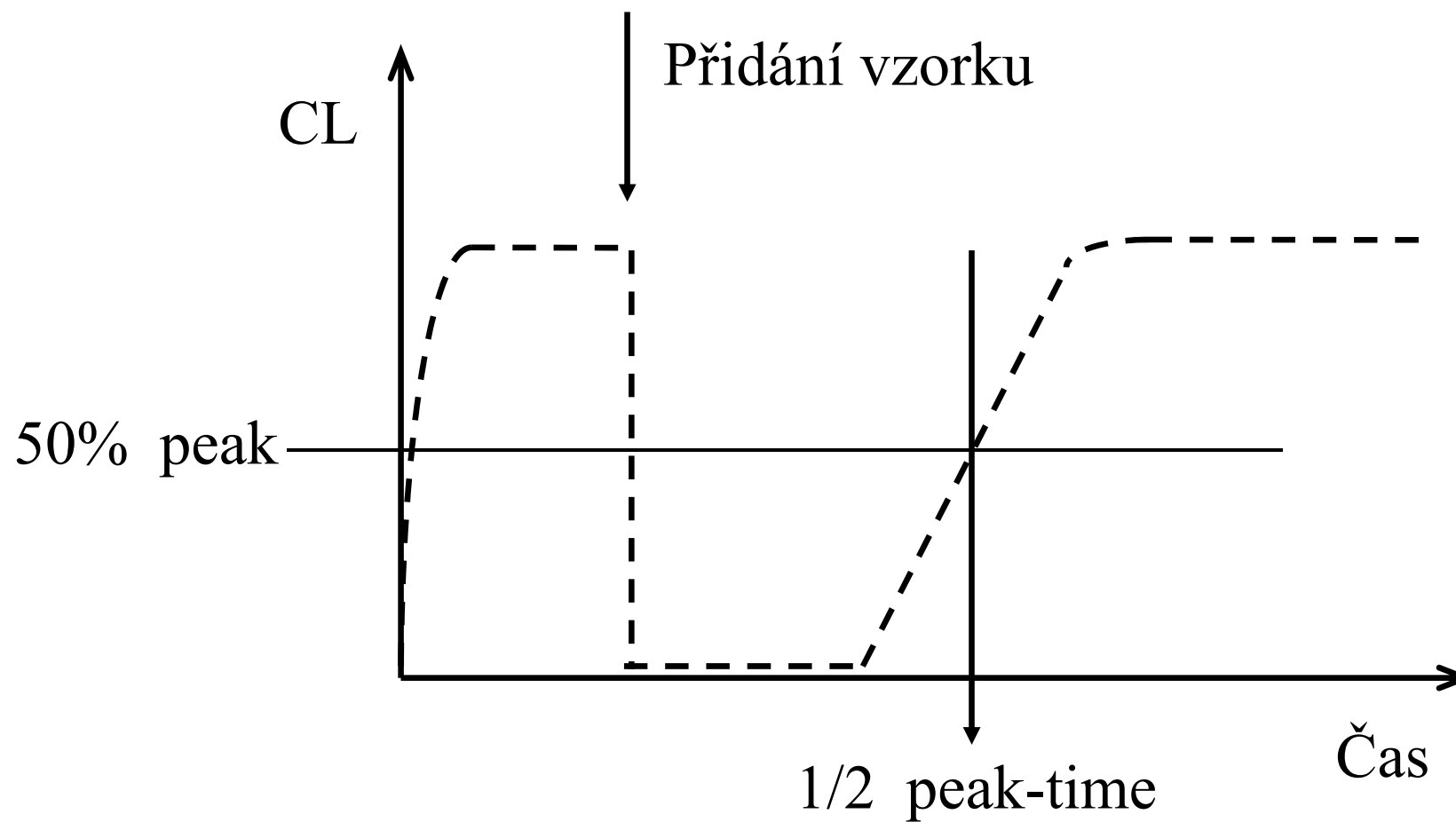


- 2,2'-azobis(2,4-dimethylvaleronitrile)

# Metoda TRAP



# Metoda TRAP



# Chemiluminescence

## Chemiluminescence (2)

- **aktivita MPO:**  
bromid-dependentní chemiluminescence v přítomnosti vzorku a peroxidu vodíku
- **buněčná proliferace a cytotoxicita:**  
luciferin-luciferáza  
závislé na ATP
- **exprese genů**  
reporter gene assay