

Biofizikální ústav

Akademie věd České republiky, v.v.i.



[O instituci](#)

[Oddělení](#)

[Centrum IT](#)

[Konference](#)

[Intranet](#)

[Kontakty](#)

Hledaný výraz



[Vyhledat](#)

DFRP

Patofyziologie volných radikálů

[Informace o oddělení](#)

[Zaměstnanci](#)

[Výzkum](#)

[Výsledky výzkumu](#)

[Publikace](#)

[Metody](#)

[Výuka](#)

[Mezinárodní projekty](#)

[Národní projekty](#)

Vedoucí oddělení:

Antonín Lojek

Oblasti zájmu:

- **Modulace mechanismů vedoucích ke tvorbě reaktivních metabolitů kyslíku a dusíku fagocyty**
- **Vliv nenasycených mastných kyselin a produktů jejich peroxidace na metabolickou aktivitu fagocytů**
- **Vzájemné interakce fagocytů s ostatními buněčnými typy a složkami mezibuněčné hmoty.**
- **Antioxidační vlastnosti tělních tekutin, léčiv a přírodních látek**
- **Role myeloperoxidázy v regulaci cévní fyziologie**
- **Redoxní regulace intracelulárního signálování**
- **Role NADPH oxidáz ve fyziologii nefagocytujících buněk**

ZABÍJEČSKÉ MECHANISMY FAGOCYTŮ



Acidification	pH= \sim 3.5–4.0, bacteriostatic or bactericidal
Toxic oxygen-derived products	Superoxide O_2^- , hydrogen peroxide H_2O_2 , singlet oxygen $^1O_2^*$, hydroxyl radical OH^* , hypohalite OCl^-
Toxic nitrogen oxides	Nitric oxide NO
Antimicrobial peptides	Defensins and cationic proteins
Enzymes	Lysozyme—dissolves cell walls of some Gram-positive bacteria. Acid hydrolases—further digest bacteria
Competitors	Lactoferrin (binds Fe) and vitamin B ₁₂ -binding protein

Figure 2-6 Immunobiology, 6/e. (© Garland Science 2005)

REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU A DUSÍKU



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

FCE:

- přeměny a uvolňování energie
- enzymatické komplexy
- signalizační molekuly
- mikrobicidní látky

ZDROJE VOLNÝCH RADIKÁLŮ

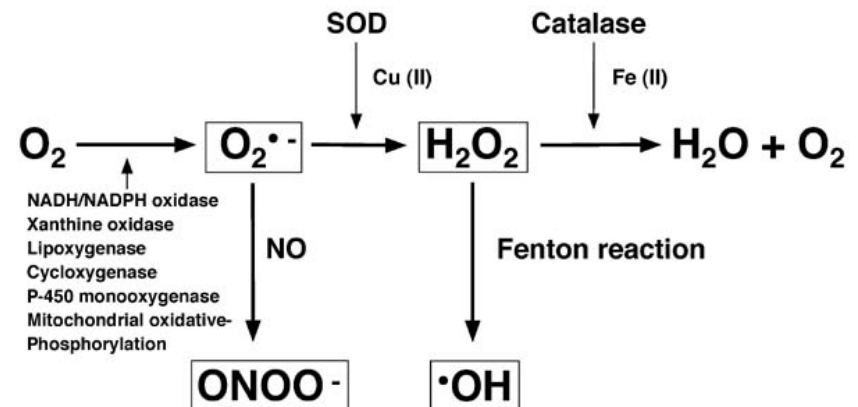


ENDOGENNÍ

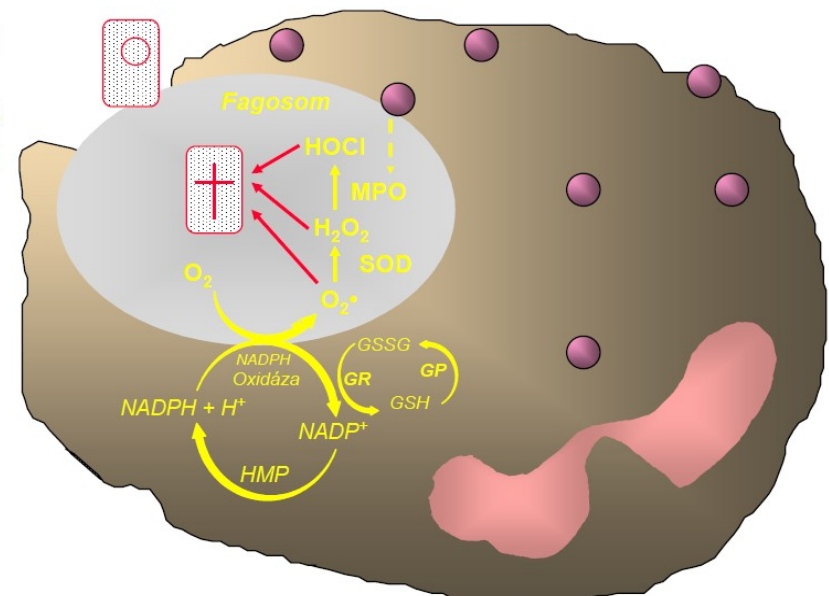
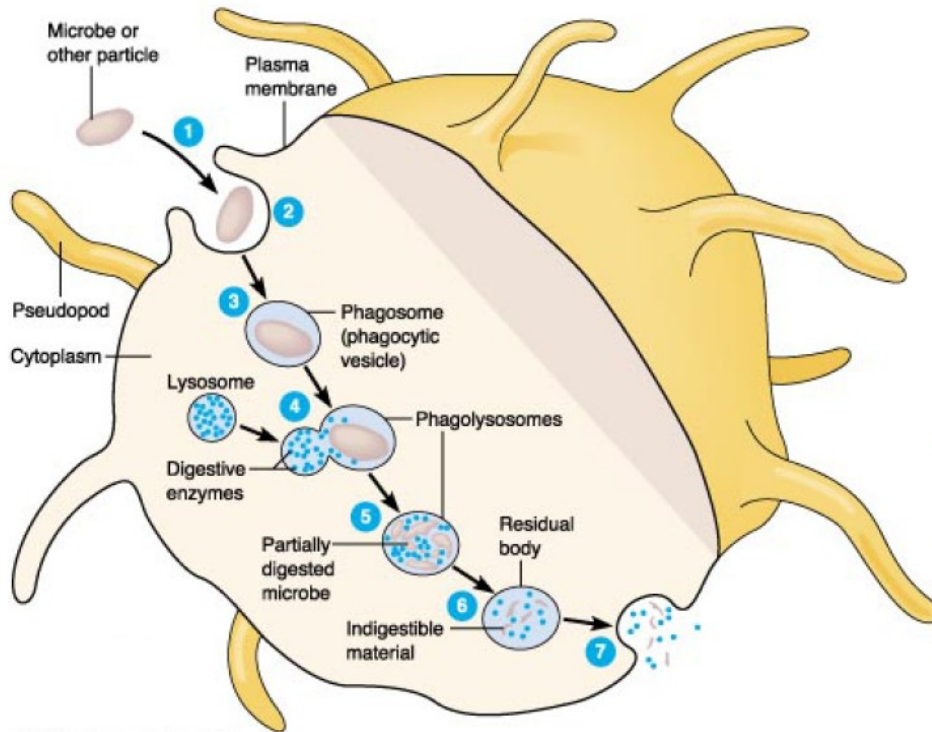
- Enzymatické systémy
 - NADPH oxidáza
 - NOS
 - Peroxidázy
 - Cytochrom P450
 - Xantin oxidoreduktáza
- Autooxidační rce.
- Proteiny obsahující hem
- Elektronový transportní řetězec mitochondrií

EXOGENNÍ

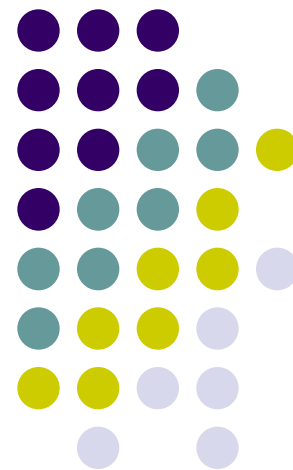
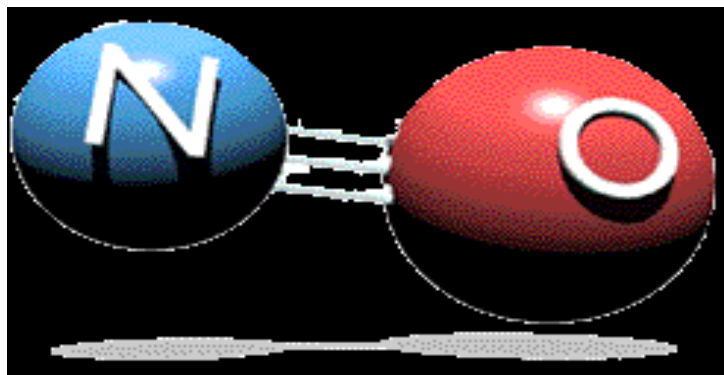
- Složky potravy
- Léčiva
- UV záření
- Ionizující záření
- Znečištěné prostředí



FAGOCYTÓZA A OXIDATIVNÍ VZPLANUTÍ



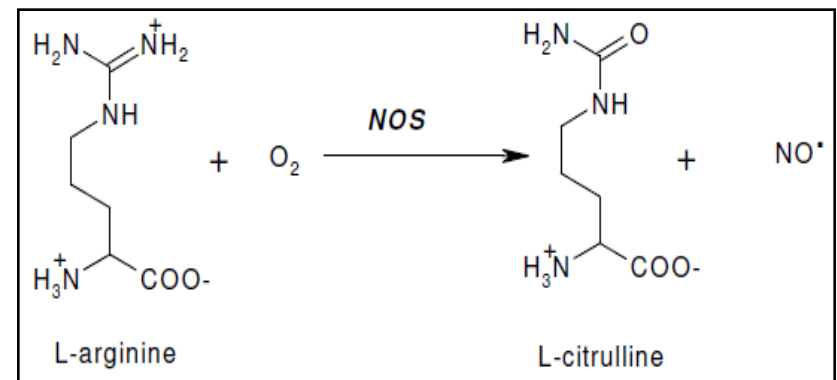
ELEKTROCHEMICKÁ DETEKCE OXIDU DUSNATÉHO



OXID DUSNATÝ



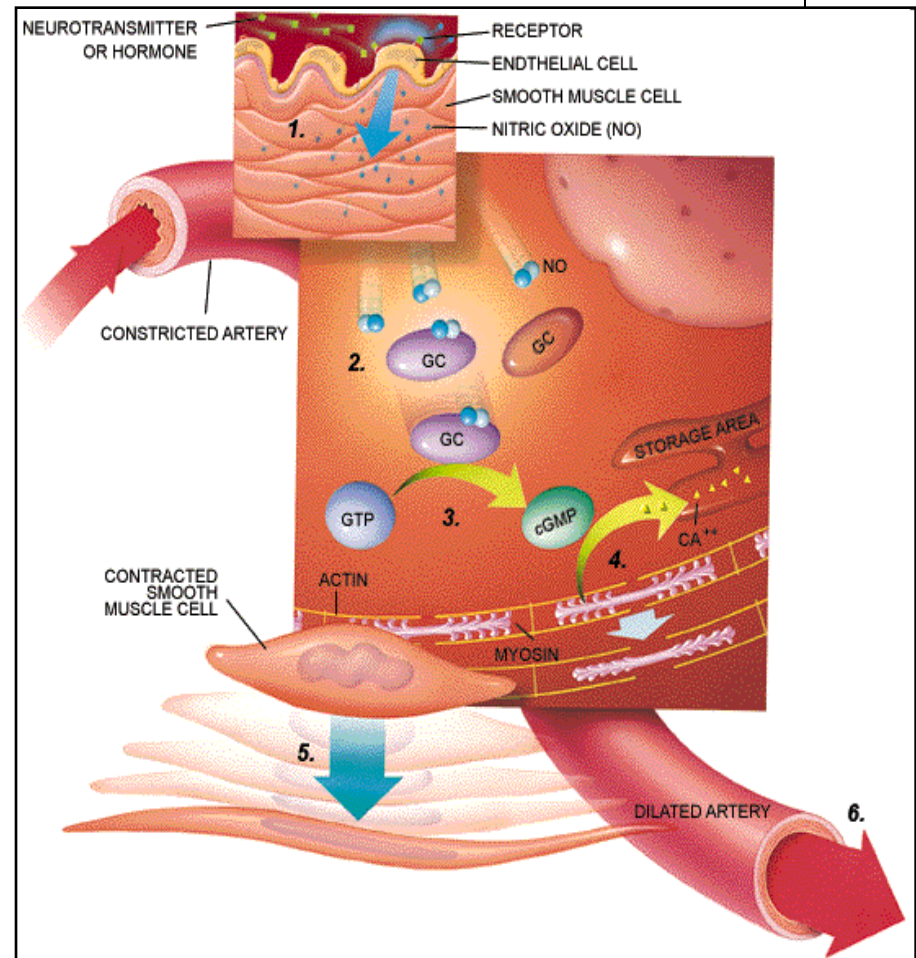
- radikál (lichý počet valenčních elektronů)
- jedna z nejstudovanějších molekul posledních let NC (1998): Furchgott, Ignarro, Murad: za klíčové objevy týkající se úlohy NO v kardiovaskulárním systému
- syntázy oxidu dusnatého:
 - neuronální (nNOS = NOS1)
 - inducibilní (iNOS = NOS2)
 - epiteliální (eNOS = NOS3)



FYZIOLOGICKÝ VÝZNAM NO



- komunikace mezi neurony v mozku
- relaxace cév
 - endothelium-derived relaxing factor (EDRF)
 - (ateroskleróza – nitroglycerin)
- mikrobicidní a zánětlivý mediátor
 - produkce RNS



METODY STANOVENÍ NO A JEHO METABOLITŮ



NEPŘÍMÉ:

Chemiluminiscence

Griessova metoda

Fluorimetrické metody

- stanovení sekundárních metabolitů (nitrity, nitráty)
- selektivita a citlivost
- časová náročnost
- drahé reagensy

PŘÍMÉ:

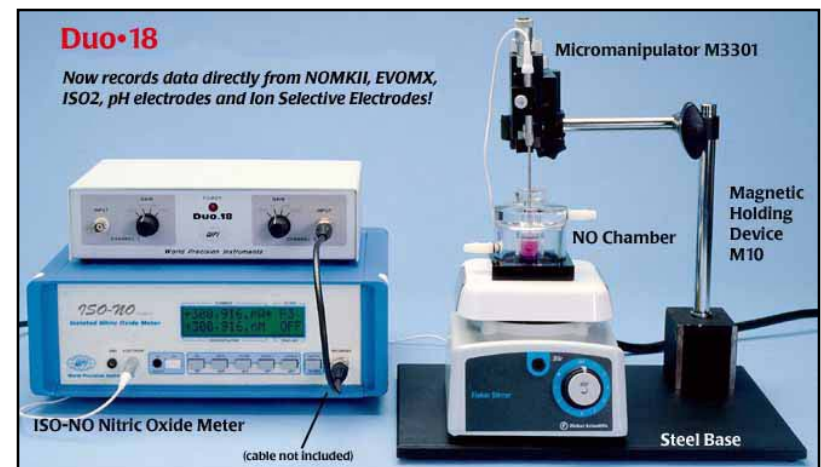
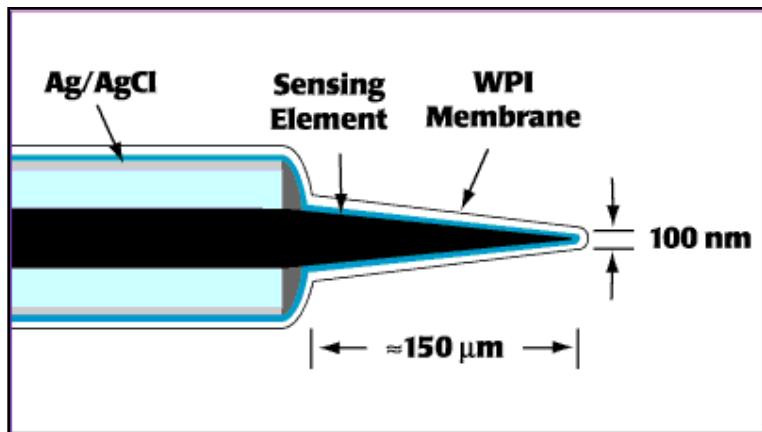
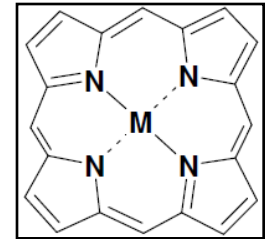
Elektrochemické metody

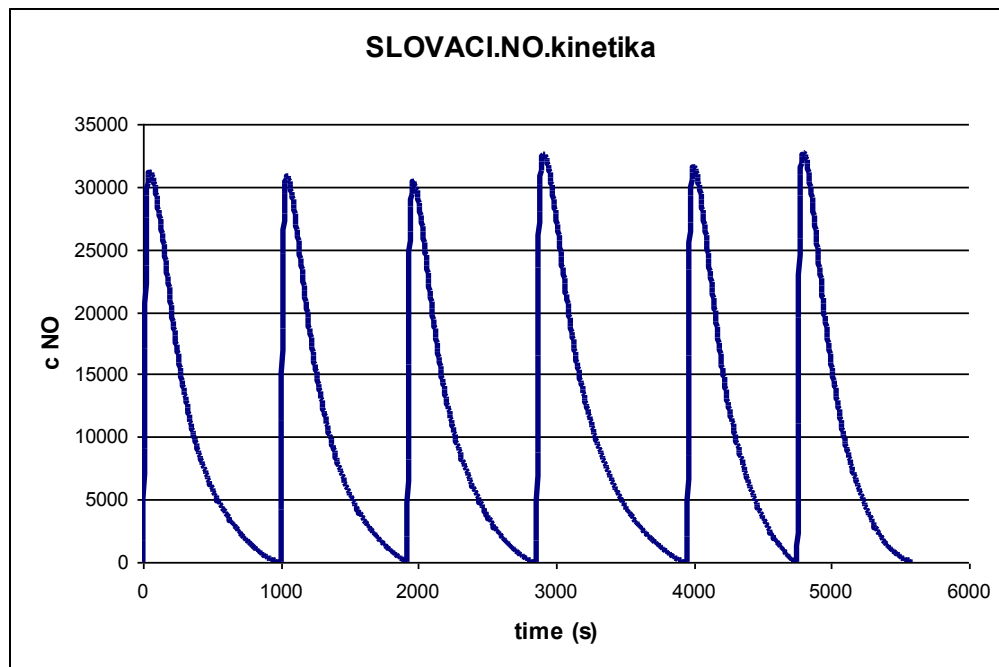
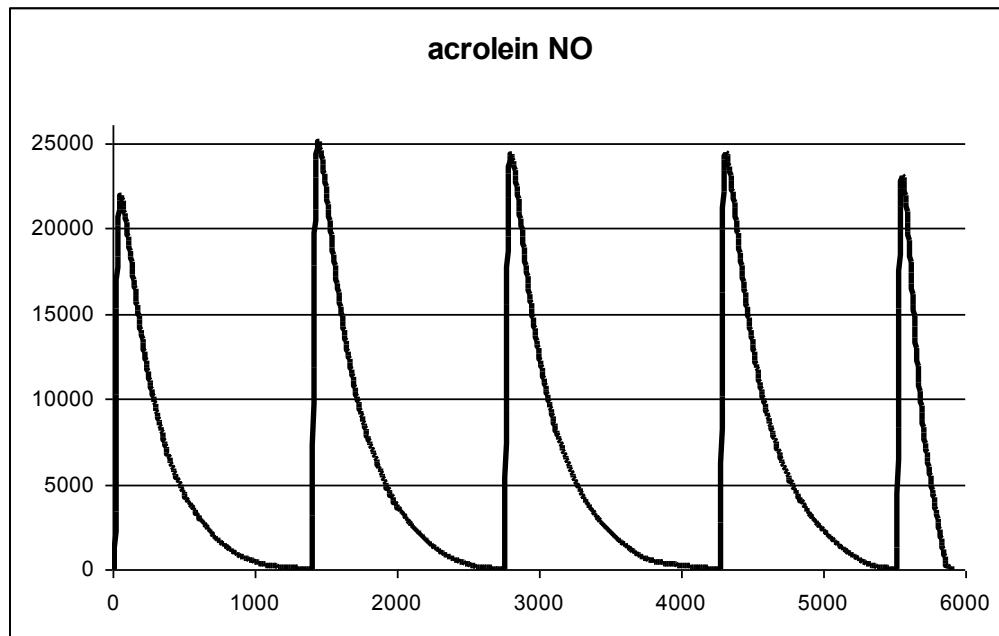
- + přímé stanovení NO
- + selektivita a citlivost
- + minimální spotřeba reagensy
- + jednoduchá kalibrace
- + nízká pořizovací cena
- + stanovení *in vivo*

NO ELEKTRODA



- oxidace NO na povrchu elektrody za vzniku potenciálu (jednoelektronový transfer z NO na elektrodu za vzniku NO⁺)
- povrch elektrody uzpůsoben k vysoké selektivitě a citlivosti k NO
 - polymery metaloporphyrinu a metalophthalocyaninu
 - NO reaguje s centrálním atomem kovu skrze N atom
»» oxidace





STANOVENÍ KONCENTRACE NITRITŮ GRIESSOVOU METODOU



- spektrofotometrické stanovení nitritů v médiu
 - NO » autooxidace » nitrity, nitráty
 - měření absorbance při 546 nm
 - výpočet koncentrace nitritů z kalibrační křivky
 - stimulace LPS (makrofágy – TLR4)

